

IPICYT

**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A. C.**

POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**“INACTIVACIÓN FOTOCATALÍTICA DE BIOAEROSOL
EMITIDOS POR UN BIOFILTRO QUE TRATA VAPORES DE
ACETATO DE ETILO”**

Tesis que presenta:

Mariana Valdez Castillo

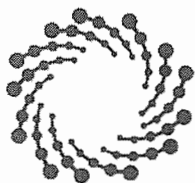
Para obtener el grado de:

Maestra en Ciencias Ambientales

Director de Tesis:

Dra. Sonia Lorena Arriaga García

San Luis Potosí, SLP, México, Agosto 2018



IPICYT

Constancia de aprobación de la tesis

La tesis ***“Inactivación Fotocatalítica de Bioaerosoles emitidos por un Biofiltro que Trata Vapores de Acetato de Etilo”*** presentada para obtener el Grado de Maestra en Ciencias Ambientales fue elaborada por **Mariana Valdez Castillo** y aprobada el veintitrés de agosto del dos mil dieciocho por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Ciencias Ambientales del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dra. Sonia Lorena Arriaga García
Directora de la tesis

Dra. Fátima Pérez Rodríguez
Miembro del Comité Tutoral

Dr. Vicente Rodríguez González
Miembro del Comité Tutoral

Dr. José Octavio Saucedo Lucero
Miembro del Comité Tutoral

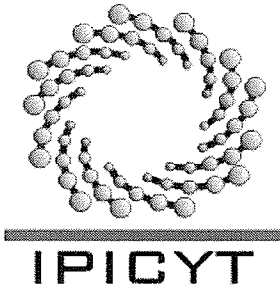


Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en los laboratorios de Biotecnología e Ingeniería Ambiental, Análisis Instrumental y Ecología y Cambio Ambiental Global de la División de Ciencias Ambientales, además del Laboratorio de Microbiología Molecular de la División de Biología Molecular, Laboratorio Nacional de Investigaciones de Nanociencias y Nanotecnología (LINAN) del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección de la Dra. Sonia Lorena Arriaga García y bajo el apoyo del proyecto SEP-CONACYT-239622 concedido a la Dra. Sonia Arriaga.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT-609725) y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.

Se agradece a la M.C. Ana Iris Peña Maldonado y a la Dra. Araceli Patrón Soberano por facilitar el trabajo realizado en el Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN).



Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 056 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Maestría en Ciencias Ambientales está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 23 días del mes de agosto del año 2018, se reunió a las 17:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. José Octavio Saucedo Lucero	Presidente	CIATEC
Dra. Fátima Pérez Rodríguez	Secretaria	IPICYT
Dra. Sonia Lorena Arriaga García	Sinodal	IPICYT
Dr. Vicente Rodríguez González	Sinodal	IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS AMBIENTALES

sustentó la C.

Mariana Valdez Castillo

sobre la Tesis intitulada:

Inactivación Fotocatalítica de Bioaerosoles emitidos por un Biofiltro que Trata Vapores de Acetato de Etilo

que se desarrolló bajo la dirección de

Dra. Sonia Lorena Arriaga García

El Jurado, después de deliberar, determinó

APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 18:40 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 23 días del mes de agosto de 2018.


Dr. Horacio Flores Zúñiga
Secretario Académico


Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento del Posgrado



DEDICATORIAS

A mi familia, y en especial a mi madre, Lourdes Valdez Castillo, y mi hermano, O. Fabricio Valdez Castillo. Sin ellos no habría sido posible llegar a ser quien soy ahora.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Sonia Lorena Arriaga por su constante e implacable compromiso con la presente investigación. Por sus lecciones práctica y teóricas para poder desarrollar los experimentos de forma eficaz, por su confianza y su apoyo.

A los miembros del comité tutorial, Dra. Fátima Pérez Rodríguez, Dr. Vicente Rodríguez Gonzales y en especial al Dr. José Octavio Saucedo Lucero por su paciencia e invaluable comentarios y atenciones.

A mi familia por su eterno e incondicional apoyo, durante todas las etapas de mi vida personal y profesional y en especial a mi madre, Lourdes Valdez Castillo, por ser un gran ejemplo de vida y transmitirme el valor y satisfacción personal de poder alcanzar los objetivos planteados en la vida. Por todas sus palabras llenas de amor en cada momento crítico y su temple para ayudarme a encontrar el camino correcto en cada situación difícil. Porque es imposible poder expresar lo agradecida que estoy por todo el esfuerzo que has hecho para poder darme todas las facilidades en mi vida, por darme educación, por motivarme a ser siempre la mejor y porque siempre has estado ahí para darme un abrazo, un consejo o un regaño cuando me descarrilo. Porque te alegras conmigo de mis logros y alegrías, porque siempre me has demostrado que estás ahí para mí.

A mi hermano, Fabricio Valdez Castillo, por siempre motivarme a ser mejor cada día, con su ejemplo personal y sobre todo por todas las palabras de aliento que siempre encontré en tus consejos, regaños y experiencias compartidas. Es invaluable cada una de tus palabras para hacerme entender la solución a los problemas banales. Tú, mi hermano de sangre, me has demostrado que ante todo hay que trabajar, porque no existe otra forma ni mayor satisfacción que poder conseguir lo que uno quiere por sus propios medios, que somos lo que queremos ser y que no hay límites más allá que los que uno mismo se impone mentalmente y que la caja de chicles siempre está disponible si uno se quiere rendir.

A mi novio, Vittorio Camacho, por cada momento de felicidad brindado, por cada momento en el que has escuchado todo lo que tenía que decir con gran detenimiento, por festejar conmigo los logros y hacerlos aún más significativos en nuestra vida, por apoyarme en muchos momentos difíciles en muy poco tiempo y por permitirme conocer un mundo artístico y cinematográfico, que hasta ahora, había sido lejano a mí, pero que me ha ayudado a entender las cosas desde otra perspectiva y ser la mejor versión de mí con una gran sonrisa y con el mayor de los ímpetus de seguir afrontado los retos venideros.

A la familia Camacho, que desde que los conocí se han portado de una manera muy cálida y amable, apoyándose en lo que han podido y sobre todo con los grandes consejos para seguir creciendo personal y profesionalmente. Por enseñarme que la fortaleza que necesito la encuentro en la Fe.

A mis amigos y amigas, que con nuestras locuras, experiencias y apoyo siempre me es muchísimo más ameno seguir esforzándome. Ustedes son la ley y siempre saben cómo sacarme una carcajada en los momentos más oscuros para superar los pensamientos negativos.

Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	ii
Créditos Institucionales	iii
DEDICATORIAS	v
AGRADECIMIENTOS	vi
Lista de Tablas	x
Capítulo I.....	x
Capítulo IV	xi
Capítulo V	xi
Capítulo VI	xi
Capítulo VI	xi
Lista de Figuras	xi
Capítulo I.....	xi
Capítulo III.....	xi
Capítulo IV	xii
Capítulo V	xii
Capítulo VI	xiii
Capítulo VII	xiii
Símbolos, abreviaturas y acrónimos	xiv
GLOSARIO	xv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xviii
CAPITULO I	1
INTRODUCCIÓN	1
ESTADO DE ARTE	3
1. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA.....	3
1.1 Fuentes de contaminantes de interiores.....	3
1.2 Tipos de contaminantes	4
1.3 Tratamientos para contaminantes atmosféricos	6
2. BIOAEROSOLES	8
2.1 Efectos de la emisión de bioaerosoles en la salud	10
2.2 Normatividad aplicable a los bioaerosoles.....	11
2.3 Muestreo y caracterización de bioaerosoles.....	12
2.3.1 Impactación en medio líquido	13

2.4	Técnicas de caracterización	14
2.4.1	Métodos de cultivo independiente.....	14
2.4.2	Métodos de cultivo independiente.....	14
2.5	Tecnologías de tratamientos de bioaerosoles en aire.....	16
2.5.1	Procesos físicos	17
2.5.1.2	Ventilación	17
2.5.1.2	Filtración	18
2.5.1.3	Ionización de aire.....	19
2.5.2	Procesos Térmicos.....	20
2.5.3	Procesos químicos	20
2.5.4	Procesos de Oxidación avanzada fotoiniciados	21
2.5.4.1	Ozonación	21
2.5.4.2	Fotólisis	21
2.5.4.3	Fotocatálisis.....	23
2.6	Mecanismos de inactivación de bioaerosoles por procesos de oxidación avanzada.....	28
3.	REFERENCIAS	30
CAPITULO II		40
	JUSTIFICACIÓN	40
	HIPÓTESIS.....	41
	OBJETIVOS.....	41
	GENERAL	41
	ESPECÍFICOS.....	41
CAPITULO III: METODOLOGÍA.....		42
	MATERIALES Y MÉTODOS	42
1.	INÓCULO	42
2.	SISTEMA EXPERIMENTAL (BIOFILTRO)	42
2.1	Síntesis y caracterización de catalizadores	44
2.2	Caracterización de los fotocatalizadores	44
2.3	Descripción del fotorreactor y parámetros operacionales	46
2.5	Muestreo y caracterización de bioaerosoles.....	48
2.6	Inactivación de bioaerosoles sobre el soporte/catalizador.....	50
2.7	Análisis de gases	51
2.8	Análisis de biomasa en el biofiltro	51
2.9	Análisis de pH y COT de lixiviados provenientes del biofiltro.....	51

3. REFERENCIAS.....	53
CAPITULO IV: ESTABILIZACIÓN DE UN BIOFILTRO QUE TRATA VAPORES DE ACETATO DE ETILO Y CARACTERIZACIÓN DE LOS BIOAEROSOLES EMITIDOS..	55
RESUMEN	55
1. INTRODUCCIÓN	56
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	58
2.1 Desempeño del biofiltro en la degradación de acetato de etilo	58
2.2 Perfil de pH y contenido de COT.....	60
2.3 Biomasa en el biofiltro.....	61
2.4 Emisión de bioaerosoles.....	62
2.5 BALANCE DE CARBONO	65
3. CONCLUSIONES	65
4. REFERENCIAS.....	66
CAPITULO V: INACTIVACIÓN DE BIOAEROSOLES EN FLUJO CONTINUO CON ZnO Y TiO₂ IMPREGNADOS EN GRANULOS DE PERLITA	69
RESUMEN	69
1. INTRODUCCIÓN	71
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	73
2.1 Caracterización e impregnación de catalizadores	73
2.1.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	73
2.1.2 Fisisorción.....	74
2.1.3 Mediciones de XRD	75
2.1.4 RAMAN.....	76
2.1.5 Gravimetría	76
2.2 Desempeño de los reactores	76
2.2.1 Controles fotolíticos y de adsorción	77
2.2.2 Proceso de fotocatalisis	78
2.3 Balance de bioaerosoles.....	85
3. CONCLUSIONES	87
4. REFERENCIAS.....	88
CAPITULO VI: INACTIVACIÓN DE BIOAEROSOLES EN UN PROCESO CONTINUO CON ZnO Y TiO₂ IMPREGNADOS SOBRE PORAVER	93
RESUMEN	93
1. INTRODUCCIÓN	94
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	97

2.1 Caracterización e impregnación de catalizadores	97
2.2 Desempeño de los reactores	99
2.2.1 Controles fotocatalíticos.....	99
2.2.2 Proceso de fotocatalisis	101
2.3 Balance de bioaerosoles.....	109
3. CONCLUSIONES	111
4. REFERENCIAS.....	112
CAPITULO VII: EFECTO DEL MATERIAL DE SOPORTE (PERLITA Y PORAVER) EN EL DESEMPEÑO DE LOS FOTOCATALIZADORES ZnO Y TiO₂ EN LA INACTIVACIÓN DE BIOAEROSOLES	116
RESUMEN	116
1. INTRODUCCIÓN	118
2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	121
2.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	121
2.2 Fisorción	124
2.3 Gravimetría.....	125
2.4 Controles fotocatalíticos.....	125
2.5 Proceso de fotocatalisis	126
2.6 Balance de bioaerosoles.....	129
3. CONCLUSIONES	132
4. REFERENCIAS.....	133
CONCLUSIONES GENERALES	138
PERSPECTIVAS GENERALES	140
ANEXOS	141
1. Curva de calibración de Acetato de Etilo	141
2. Curva de calibración de CO ₂	141
3. Medición de bioaerosoles en el citómetro de flujo	142
4. Medición de esporas fúngicas por medio de microscopía de epifluorescencia	143

Lista de Tablas

Capítulo I

Tabla 1. Contaminantes criterio del aire y sus efectos en el ambiente y la salud.	5
Tabla 2. Reporte de emisión de bioaerosoles por procesos biológicos.	7
Tabla 3. Propiedades físicas y químicas de los bioaerosoles.....	8
Tabla 4. Principales tipos de microorganismos que están potencialmente presentes dentro de los edificios (Tabla modificada de Goyer et al. 2001).	9

Tabla 5. Estudios realizados para evaluar la efectividad de la irradiación UV sobre bioaerosoles	22
Tabla 6. Estudios realizados con procesos fotocatalíticos para la inactivación de bioaerosoles	25

Capítulo IV

Tabla 7. Balance de carbono global.....	65
---	----

Capítulo V

Tabla 8. Balance global para los sistemas fotocatalíticos.	87
---	----

Capítulo VI

Tabla 9. Resultados de la caracterización de las nanopartículas	98
---	----

Tabla 10. Balance global para los sistemas fotocatalíticos con poraver.....	110
---	-----

Capítulo VI

Tabla 11. Características fisicoquímicas de los catalizadores impregnados en los soportes	121
---	-----

Tabla 12. Resultados globales en la eficiencia de inactivación de bioaerosoles y desactivación de catalizadores en los cuatro sistemas fotocatalíticos.....	127
---	-----

Tabla 13. Cantidad de bacterias, levaduras y esporas fúngicas retenidos en el soporte de los diferentes sistemas después de las 96 h de operación.....	129
--	-----

Lista de Figuras

Capítulo I

Figura 1. Estado físico de los contaminantes de aire [23].	5
---	---

Figura 2. Ordenes de magnitud para algunos componentes de los bioaerosoles.....	8
---	---

Figura 3. Método de muestreo de bioaerosoles por medio de impingers e impactación de la corriente de aire que contiene los bioaerosoles con el líquido de los impingers.....	13
--	----

Figura 4. Diagrama de flujo de los métodos de muestreo de bioaerosoles y su posterior técnica de identificación o análisis. Imagen modificada de Mandal y Brandl (2011).....	16
--	----

Figura 5. Excitación de ZnO por fuente de luz y liberación de ROS que dañan la membrana y el ADN de los microorganismos, imagen modificada de Podporska-Carroll y colaboradores (2017).	28
--	----

Figura 6. Mecanismos de inactivación de células microbianas por fotocatalisis [81]	29
--	----

Figura 7. Imagen de tres diferentes regiones en un proceso de degradación microbiana por fotocatalisis (Chen et al. 2010).	30
---	----

Capítulo III

Figura 8. Diagrama de operación general para la biofiltración de vapores de acetato de etilo e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en flujo continuo; 1) Compresor, 2) Bomba de aire, 3) Medidor de flujo másico, 4) Saturador con acetato de etilo líquido, 5) Humidificador, 6) Rotámetro, 7) Biofiltro compuesto de dos módulos, 8) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en perlita o poraver, 9) Impinger AGI-30, 10) Trampa de humedad, 11) Bomba peristáltica, 12) Puerto de muestreo a la entrada del biofiltro y 13) Puerto de muestreo a la salida del biofiltro.....	42
--	----

Figura 9. Proceso de biofiltración de acetato de etilo y emisión y muestreo de bioaerosoles provenientes del biofiltro (Capítulo IV); 1) Puertos de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Impactador de vidrio (Glass Impinger AGI – 30), 4) Trampa de humedad y 5) Bomba de vacío	44
---	----

Figura 10. Proceso de biofiltración e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en continuo con los catalizadores impregnados en Perlita (Capítulo V); 1) Puerto de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en perlita, 4) Impinger AGI-30, 5) Trampa de humedad, 6) Bomba peristáltica	46
Figura 11. Proceso de biofiltración e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en continuo con los catalizadores impregnados en Poraver (Capítulo VI); 1) Puerto de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en poraver, 4) Impinger AGI-30, 5) Trampa de humedad, 6) Bomba peristáltica	46
Figura 12. Proceso de biofiltración e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en continuo con los catalizadores impregnados en Perlita o Poraver (Capítulo VII); 1) Puerto de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en soporte, 4) Impinger AGI-30, 5) Trampa de humedad, 6) Bomba peristáltica	47
Figura 13. Material y componentes necesarios para el muestreo de bioaerosoles por método de impigement	48
Figura 14. Sistema óptico del citómetro de flujo BDCalibur [91].	49
Figura 15. Diagrama de bloques del sistema experimental.	52

Capítulo IV

Figura 16. Capacidad de eliminación de acetato de etilo por el biofiltro	59
Figura 17. Eficiencia de remoción de acetato de etilo por el biofiltro	59
Figura 18. Producción de CO ₂	60
Figura 19. Porcentaje de mineralización real	60
Figura 20. Variación de pH de los lixiviados del biofiltro.....	61
Figura 21. Monitoreo de COT en los lixiviados del biofiltro.....	61
Figura 22. Porcentaje de biomasa en los módulos del biofiltro.....	61
Figura 23. Ácaros recuperados de los lixiviados del biofiltro	62
Figura 24. Cuantificación y caracterización de muestras bioaerosoles emitidos por el biofiltro	64
Figura 25. Emisión de bioaerosoles y capacidad de eliminación de los vapores de acetato de etilo.....	64

Capítulo V

Figura 26. Caracterización morfológica y de distribución de ZnO sobre perlita; a) Nanopartícula ZnO, b) y c) ZnO/Perlita	74
Figura 27. Caracterización morfológica y de distribución de TiO ₂ sobre perlita; a) Nanopartícula TiO ₂ , b) y c) TiO ₂ /Perlita.....	74
Figura 28. Isotermas de adsorción para los catalizadores	75
Figura 29. Difractogramas de ZnO y TiO ₂	75
Figura 30. Espectros Raman de ZnO y TiO ₂	76
Figura 31. Control de fotólisis	77
Figura 32. Controles de adsorción; A) ZnO/Perlita y B) TiO ₂ /Perlita.....	78
Figura 33. Proceso fotocatalítico ZnO/Perlita.....	79
Figura 34. Proceso fotocatalíticoTiO ₂ /Perlita.....	81
Figura 35. Transferencia de bioaerosoles y CO ₂ a través de la fase gaseosa y la fase acuosa en el sistema ZnO/Perlita (imagen modificada y adaptada de Saucedo y col. 2015) [31].	81
Figura 36. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema ZnO/Perlita	83
Figura 37. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema TiO ₂ /Perlita.....	83

Figura 38. Micrografías de bioaerosoles en Perlita sin impregnación de ZnO (Control) y ZnO/Perlita (A, B y C).	84
Figura 39. Mecanismo de inactivación de bioaerosoles en sistema ZnO/Perlita	85

Capítulo VI

Figura 40. Caracterización morfológica y de distribución sobre poraver del ZnO; a) Nanopartícula ZnO, b) y c) ZnO/Poraver.....	98
<i>Figura 41. Caracterización morfológica y de distribución sobre poraver del TiO₂; a) Nanopartícula TiO₂, b) y c) TiO₂/Poraver</i>	99
Figura 42. Control de fotólisis	100
Figura 43. Controles de adsorción; A) ZnO/Poraver y B) TiO ₂ /Poraver	100
Figura 44. Proceso fotocatalítico ZnO/Poraver.....	103
Figura 45. Proceso fotocatalíticoTiO ₂ /Poraver	103
Figura 46. Transferencia de bioaerosoles y CO ₂ a través de la fase gaseosa y la fase acuosa en el sistema fotocatalítico ZnO/Poraver (imagen modificada y adaptada de Saucedo y col. 2015) [31].	104
Figura 47. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema ZnO/Poraver	105
Figura 48. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema TiO ₂ /Poraver.	106
Figura 49. Micrografía de muestra control de poraver sin impregnación de catalizador y fijada con GTH.....	107
Figura 50. Micrografías de bioaerosoles en ZnO/Poraver	108
Figura 51. Micrografías de bioaerosoles en TiO ₂ /Poraver	108
Figura 52. Mecanismo de inactivación fotocatalítica de bioaerosoles con ZnO	109

Capítulo VII

Figura 53. Perlita sin catalizador impregnado	¡Error! Marcador no definido.
Figura 54. Poraver sin catalizador impregnado	122
Figura 55. Caracterización morfológica y de distribución sobre perlita del ZnO; a) Nanopartícula ZnO, b) y c) ZnO/Perlita	123
Figura 56. Micrografías a diferentes aumentos de ZnO/Poraver	123
Figura 57. Caracterización morfológica y de distribución sobre perlita del TiO ₂ ; a) Nanopartícula TiO ₂ , b) y c) TiO ₂ /Perlita.....	123
Figura 58. Micrografías a diferentes aumentos de TiO ₂ /Poraver	124

Símbolos, abreviaturas y acrónimos

θ = ángulo Theta	L = Litro
A_{BET} = Área BET	m^2 = Metro cuadrado
ADN = Ácido desoxirribonucleico	m^3 = Metro cúbico
ARN = Ácido ribonucleico	LEGEEPA = Ley General para el Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente
AE = Acetato de Etilo	% M = Porcentaje de Mineralización
AgO = Óxido de Plata	mL = Mililitro
BC = Banda de conducción	mmol = Milimolar
BET = Brunauer-Emmet-Teller Banda	min = minuto
BV = Banda de Valencia	μm = micrómetro
$^{\circ}\text{C}$ = Grado centígrado	nm = nanómetro
CE = Capacidad de eliminación	O_2^- = radical superóxido
CI = Carga inicial	O_2 = Oxígeno
COT = Carbono Orgánico Total	$\cdot\text{OH}$ = Radical hidroxilo
CO_2 = Dióxido de Carbono	PCO_2 = Producción de CO_2
CG = Cromatógrafo de Gases	pH = Potencial de hidrógeno
CuO = Óxido de Cobre	P/V = Peso/Volumen
EA = Ethyl Acetate	seg = segundo
EBRT = Tiempo de residencia de lecho vacío	SEM = Microscopia electrónica de barrido
EPA = Environmental Protection Agency	<i>Spp.</i> = Especie
ER = Eficiencia de Remoción	TCD = <i>Termal Conductivity Detector</i>
FID = <i>Flame ionization detector</i>	TiO_2 = Óxido de Titanio
g = gramo	UFC = Unidades Formadoras de Colonias
h = hora	UV = Ultravioleta
HEPA = <i>High Efficiency Particle Arresting</i>	V/V = Volumen/Volumen
<i>hv</i> = <i>exposición luminosa</i>	XRD = <i>X Ray Diffraction</i>
IUPAC = <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	ZnO = Óxido de Zinc

GLOSARIO

Término	Definición
Bioaerosoles	Partículas suspendidas en el aire provenientes de material biológico. Consisten de bacterias, hongos, virus, partículas de peso molecular alto, alergénicos, endotoxinas (provenientes de bacterias), micotoxinas (provenientes de hongos), peptidoglicanos (provenientes de bacterias y hongos), $\beta(1\rightarrow3)$ -glucanos, polen y fibras de planta
Bioaerosoles sintéticos	Los bioaerosoles sintéticos son partículas biológicas provenientes de cultivos con microorganismos (bacterias, hongos y virus) de especies y concentraciones conocidas como <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> o <i>Bacillus subtilis</i> que son comúnmente encontradas en aire ambiente. Los bioaerosoles sintéticos son generados cuando se someten a equipos que aerolizan las soluciones para poder deshidratarlas y posteriormente son sometidos a equipos nebulizadores que emiten los microorganismos con una humedad controlada y en forma de gotas.
Biofiltro	Recipiente donde ocurren reacciones biológicas para la degradación de uno o más contaminantes gaseosos. Las reacciones biológicas son desarrolladas por microorganismos inmovilizados
Biopelícula	Capas de consorcios de microorganismos agregados y soportados sobre diferentes medios naturales o sintéticos. Los polímeros extracelulares de los microorganismos se fijan a la superficie del soporte.
Catalizador	Sustancia capaz de acelerar una reacción. En este caso, el catalizador funge como sustancia, que una vez que absorbe fotones, acelera reacciones de oxidación y reducción para producir especies reactivas oxidantes
Desactivación de catalizador	Pérdida de la capacidad de acelerar la velocidad de reacciones de oxidación y reducción. Bloqueo de sitios activos del catalizador.
Ensuciamiento de catalizador	Desactivación rápida debido a una deposición o bloqueo físico de la superficie.
Envenenamiento de catalizador	Modificación de la superficie del catalizador por fenómenos de quimisorción en los sitios activos causado por adsorbatos
Fotocatálisis	Es un proceso que involucra la absorción de fotones en la superficie de un óxido metálico (semiconductor) para acelerar la producción de especies reactivas oxidantes. Ocurren, al menos, dos reacciones simultáneamente; la primera reacción es de oxidación, donde se fotoproducen electrones hueco positivos en la banda de valencia (BV) del semiconductor, y la segunda reacción es la migración de un electrón de la BV a la banda de conducción (BC).
Inactivación de bioaerosoles	Inducción de la muerte celular de los bioaerosoles por medio de diferentes mecanismos como alteración en el ciclo de la coenzima A, desequilibrio de iones, ruptura de membrana o lisis celular
Lixiviados	Líquido que proviene del riego del biofiltro con medio mineral y que ha estado en contacto con la biopelícula del mismo
Mineralización	Proceso biológico que involucra la transformación de la materia orgánica hasta CO_2 y H_2O como productos finales
Degradación	Proceso biológico que involucra la transformación de la materia orgánica a compuestos de menor complejidad

RESUMEN

INACTIVACIÓN FOTOCATALÍTICA DE BIOAEROSOLES EMITIDOS POR UN BIOFILTRO QUE TRATA VAPORES DE ACETATO DE ETILO

Palabras Clave: Biofiltración, emisión de bioaerosoles, fotocatalisis en flujo continuo, citometría de flujo, microscopia de epifluorescencia

Los procesos de biofiltración son usados para biodegradar contaminantes en aire con eficiencias de remoción del 100% para compuestos de fácil degradación como alcoholes y aldehídos. Sin embargo, bajo condiciones de alta carga de contaminante, bajos contenidos de humedad e inclusive en condiciones estables de operación, estos sistemas emiten bioaerosoles que son partículas de origen biológico que causan daños muy severos a la salud como asma, neumonías o cáncer.

En esta investigación se estudió un proceso de inactivación fotocatalítica con flujo continuo de bioaerosoles emitidos por un biofiltro que trató vapores de acetato de etilo (AE). El biofiltro fue empacado con perlita y con un consorcio de la una planta de tratamiento de agua residual, operó a una carga de 60 g/m³h, un tiempo de residencia de 1 min y removió el 100% del AE alimentado. Se conectó un fotorreactor anular a la salida del biofiltro, el volumen de este fue de 210 mL y operó con un tiempo de residencia de gas de 5.72 segundos. El fotorreactor fue empacado con perlita o poraver, previamente impregnados con los catalizadores ZnO o TiO₂ y se colocó una lámpara-UV de 254 nm en el tubo anular de cuarzo del fotorreactor para fotoexcitar los catalizadores. Los bioaerosoles fueron muestreados a la entrada (salida del biofiltro) y salida del fotorreactor por medio del método de impactación líquida usando un impinger AGI-30 con 20 mL de solución estéril de PBS. Los bioaerosoles fueron cuantificados y caracterizados por citometría de flujo usando los fluorocromos naranja de tiazol y yoduro de propidio para determinar el número de células vivas, muertas y dañadas en las muestras.

La concentración de bioaerosoles a la entrada del fotorreactor fueron de $4.35 \times 10^7 \pm 2.46 \times 10^6$, $1.47 \times 10^7 \pm 2.06 \times 10^5$, $1.21 \times 10^8 \pm 1.34 \times 10^7$ y $6.58 \times 10^7 \pm 2.49 \times 10^6$ células/m³aire en los sistemas ZnO/Perlita, TiO₂/Perlita, ZnO/Poraver y TiO₂/Poraver, respectivamente. La concentración de bioaerosoles a la salida del fotorreactor fue de $7.04 \times 10^7 \pm 9.08 \times 10^6$, $1.28 \times 10^8 \pm 1.57 \times 10^7$, $1.81 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^7$ y $5.53 \times 10^7 \pm 2.55 \times 10^6$ células/m³aire en los sistemas ZnO/Perlita, TiO₂/Perlita, ZnO/Poraver y TiO₂/Poraver, respectivamente. Observando que hubo procesos de desorción en los sistemas. El sistema fotocatalítico más eficiente fue el de ZnO/Perlita con un 68-72% de inactivación de bioaerosoles, manteniendo dicho porcentaje de inactivación durante 7.5 horas en comparación con los sistemas fotocatalíticos de TiO₂/Perlita y TiO₂/Poraver, que tuvieron un porcentaje de inactivación máximo de 40% y 70% pero por un menor tiempo de vida del catalizador

de 1 y 3.5 horas, respectivamente. Por otro lado, el sistema ZnO/Poraver no logró inactivar bioaerosoles debido a la baja capacidad de retención de agua del soporte que llevo al sistema a no producir suficientes $\cdot OH$ y al pronto envenenamiento del catalizador por los bioaerosoles, y reducir por lo tanto su capacidad de inactivación; así como también se debió a las reacciones de competencia entre la oxidación del material biológico y la reducción del CO_2 .

También se determinó que los bioaerosoles emitidos por el biofiltro están compuestos de 81 – 99 % de bacterias y levaduras y de 1 – 19 % de hongos. El sistema ZnO/Perlita logró disminuir la concentración de hongos en un 63.08 ± 13.63 % en las primeras 5 horas de evaluación del sistema mientras que en el sistema TiO_2 /Perlita se registró una disminución de hasta 53.13 ± 4.70 % en las primeras 2.5 horas. Por otro lado, en el sistema ZnO/Poraver se registró una disminución promedio de la concentración de hongos, durante la primera hora del proceso, de 57.3 ± 0.01 % y en el sistema TiO_2 /Poraver se detectó una disminución máxima de 72.8 % en la primera hora de operación. El mecanismo de inactivación de los bioaerosoles observado a través de microscopia electrónica de barrido fue por daño en la membrana de los bioaerosoles, lisis celular, así como la modificación morfológica de las células. De acuerdo a los resultados obtenidos, los sistemas fotocatalíticos en continuo son tecnologías adecuadas para eliminar los bioaerosoles en el aire hasta en un 70%; sin embargo, los tiempos de desactivación catalítica tan cortos (tiempo de vida media) de los catalizadores son un parámetro que debe evaluarse y mejorarse, es importante proponer alternativas de síntesis o mejoramiento de catalizadores para prolongar su vida media.

ABSTRACT

PHOTOCATALYTIC INACTIVATION OF BIOAEROSOLS EMITTED BY A BIOFILTER THAT TREATS ETHYL ACETATE VAPORS

Key words: Biofiltration, bioaerosol emission, inactivation, continuous flow photocatalysis, flow cytometry, epifluorescence microscopy

Biofiltration processes have used widely to biodegrade pollutants from air with 100% of removal efficiencies for easily degradable compounds such as alcohols and aldehydes. Nevertheless, under conditions of high pollutant loading rates, low moisture contents and even in stable operating conditions, these systems emit bioaerosols that are particles of biological origin that cause severe health damages such as asthma, pneumonia or cancer.

In this research, a process of continuous photocatalytic inactivation of bioaerosols emitted by a biofilter that treated Ethyl Acetate (AE) vapors was studied. The biofilter was packed with perlite and with a wastewater treatment plant consortium, the system operated at a loading rate of 60 g /m³h and a residence time of 1 min removing 100% of the EA fed. An annular photoreactor was connected to the output of the biofilter, the reactor volume was 210 mL and it operated with a gas residence time of 5.72 seconds. The photoreactor was packed with perlite or poraver previously impregnated with ZnO or TiO₂ powder and a UV-lamp of 254 nm was placed in the reactor annular quartz tube to photoexcite the catalysts. Bioaerosols were sampled at the inlet (biofilter outlet) and outlet of the photoreactor by liquid impaction method using an impinger AGI-30 with 20 mL of sterile PBS solution. The bioaerosols were quantified and characterized by flow cytometry using thiazole orange and propidium iodide as fluorochromes, the live, dead and damage cells in the samples were measured.

The bioaerosols concentration at the inlet of the photoreactor was $4.35 \times 10^7 \pm 2.46 \times 10^6$, $1.47 \times 10^7 \pm 2.06 \times 10^5$, $1.21 \times 10^8 \pm 1.34 \times 10^7$ y $6.58 \times 10^7 \pm 2.49 \times 10^6$ cells/m³air in ZnO/Perlite, TiO₂/Perlite, ZnO/Poraver and TiO₂/Poraver systems, respectively. In the other hand, the bioaerosols concentration at the outlet was $7.04 \times 10^7 \pm 9.08 \times 10^6$, $1.28 \times 10^8 \pm 1.57 \times 10^7$, $1.81 \times 10^8 \pm 1.30 \times 10^7$ y $5.53 \times 10^7 \pm 2.55 \times 10^6$ cells/m³air in ZnO/Perlite, TiO₂/Perlite, ZnO/Poraver and TiO₂/Poraver systems, respectively. Desorption processes took place in the systems tested. The most efficient photocatalytic system was integrated by ZnO/Perlite with 68-72% bioaerosols inactivation, maintaining for 7.5 hours compared to the system TiO₂/Perlite and TiO₂/Poraver which had a maximum inactivation percentage of 40% and 70% although maintaining for a shorter period of 1 and 3.5 hours, respectively. On the other hand, the ZnO/Poraver system failed to inactivate bioaerosols due to the low support water retention capacity that led the system not producing enough ·OH and the soon catalyst poisoning by deposition of bioaerosols, and therefore

reducing its inactivation capacity. Also, the competition reactions between the oxidation of biological material and the reduction of CO₂ could take place.

It was also determined that the bioaerosols emitted by the biofilter are composed of 81-99% of bacteria and yeasts and 1-19% of fungal spores. The ZnO/Perlite system reduced the fungal spores concentration by $63.08 \pm 13.63\%$ in the first 5 hours of system evaluation while in the TiO₂/Perlite system a decrease of up to $53.1 \pm 4.70\%$ was registered in the first 2.5 hours. On the other hand, in the ZnO/Poraver system, an average decrease in fungal spores concentration of $57.3 \pm 0.01\%$ was registered, during the first hour of the process and in the TiO₂/Poraver system a maximum decrease of 73% of fungal bioaerosols was detected in the first hour of operation. The mechanism of bioaerosols inactivation occurred mainly by damage of the cells membrane, cell lysis, as well as the cell morphological modification detected by scanning electronic microscopy. According to the results obtained, continuous photocatalytic systems are suitable technologies to eliminate up to 70% of bioaerosols in the air. However, the catalytic deactivation times of the catalysts that were so short (half-life) must be evaluated and improved in future research, it is important to propose alternatives of synthesis of catalysts to improve their half-life time.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una creciente preocupación con respecto a la calidad del aire y los niveles de exposición de los diferentes contaminantes a los que estamos expuestos los seres vivos tanto en espacios exteriores como en interiores. Se ha reportado que el uso de procesos biológicos como los biorreactores para el tratamiento de contaminantes atmosféricos es eficaz, pero dichos procesos son una fuente importante de emisión de bioaerosoles que pueden llegar a ser más perjudiciales para la salud de los humanos que los compuestos orgánico volátiles o los compuestos que causan el mal olor en aire de interiores [1]–[3].

Los bioaerosoles son sustancias o partículas de origen biológico suspendidas en el aire con un tamaño diverso desde 0.003 – 200 μm [4], [5]. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que el Valor Límite de Exposición (ELV) de bioaerosoles en aire de interiores debe ser menor a las 300 UFC/ m^3 [3] debido a que la presencia de estos se ha relacionado con enfermedades infecciosas (tuberculosis, influenza y gripe), respiratorias (bronquitis, asma o neumonía) y crónico degenerativas como el cáncer [6], además, se sabe que los ocupantes de edificios permanecen más del 85% del tiempo en interiores [7] aumentando el riesgo de exposición a los bioaerosoles.

Por lo anterior, diferentes procesos se han investigado para evitar, reducir y controlar la presencia de bioaerosoles en espacios de interiores. Dentro de estos procesos se incluyen la filtración [8], [9], inactivación térmica [10] y desinfección con halógenos [11] combinado con procesos de oxidación avanzada, ionización bipolar de aire e irradiación de luz ultravioleta (UV) para inactivar bioaerosoles [5], [12], [13]. Para desarrollar las estrategias de control es necesario entender factores como los tipos de fuentes, las interacciones entre los contaminantes del aire y la naturaleza de los bioaerosoles [7].

Se ha documentado que la fotocatalisis heterogénea es eficiente para controlar y eliminar bioaerosoles ya que por medio de los radicales hidroxilos producidos por las reacciones fotocatalíticas y la interacción de dichos oxidantes con los bioaerosoles se logra la inactivación permanente de los mismos sin riesgo de que exista una reparación oscura de microorganismos [12], [14]–[16].

Los sistemas fotocatalíticos presentan ventajas sobre otros métodos de control de bioaerosoles por la rápida eliminación de los mismos, sin embargo, es necesario estudiar este tipo de procesos con catalizadores que mantengan un mayor grado de eficiencia y cuya vida media sea mayor ya que una de las principales limitaciones de estas técnicas es la desactivación del catalizador. Además, muchos de los

estudios reportados se han desarrollado con bioaerosoles sintéticos y en procesos en lote [5], [17], [18], no así con bioaerosoles reales y en procesos en continuo [19]–[21]. Otro aspecto importante es establecer mecanismos de inactivación, que hasta la fecha son inciertos ya que se sabe que la desactivación se da por decremento de Coenzima A en células, desequilibrio de iones de K^+ , daño a nivel del ARN y ADN y proteínas del citoplasma, peroxidación de los lípidos de las estructuras celulares [18].

En la presente investigación se desarrolló la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles reales emitidos de un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo y a través de un proceso en continuo. Los sistemas fotocatalíticos en continuo estuvieron compuestos de ZnO y TiO₂ inmovilizados en perlita y poraver y activados a 254 nm. La técnica que se usó para caracterizar y cuantificar los bioaerosoles fue la citometría de flujo, técnica de cultivo independiente acoplada a fluorocromos, la cuál ha sido usada escasamente hasta la fecha. De esta manera, se caracterizó el contenido de bioaerosoles en células vivas, muertas y dañadas.

ESTADO DE ARTE

1. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA

La atmósfera consiste en una mezcla de gases y pequeñas partículas líquidas o sólidas que envuelven a la Tierra y cualquier alteración sobre ella tiene una gran repercusión en los seres vivos [22], [23].

Debido a que el aire está compuesto de una mezcla de compuestos que varía en el tiempo y espacio, es difícil definir precisamente lo que es la contaminación, por lo que se tomará la definición presente en la Ley General para el Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LEGEEPA, 2010) en México, donde se menciona que: “Se entiende por contaminación la presencia en el ambiente de uno o más contaminantes (materia o energía) o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico”.

Durante los últimos 50 años se han producido 60,000 compuestos químicos nuevos, en su mayoría son catalogados como tóxicos o dañinos ya que se han acumulado en el ambiente y en algunos casos se han acumulado en el cuerpo humano. Las emisiones de contaminantes atmosféricos se dispersan en la atmósfera y son transportados a largas distancias lejos de sus fuentes de emisión. El medio en el cual los contaminantes de aire son transportados en la atmósfera y su dinámica determina su tiempo de vida media y su impacto en el ambiente y en la salud humana [24].

Los contaminantes atmosféricos pueden llegar a concentrarse en espacios de interiores y el riesgo a la salud para los humanos por las exposiciones a estos es mucho más grande comparado con la exposición a aire de exteriores. Lo anterior es consecuencia de los pequeños volúmenes de espacio, en los cuales los humanos pasamos alrededor de 85% de su tiempo en ambientes de interiores y adicionalmente un 3% dentro de vehículos [7].

1.1 Fuentes de contaminantes de interiores

Hay muchas fuentes de contaminantes atmosféricos de aire de interiores. Estas incluyen los procesos fisicoquímicos y biológicos que emiten sustancias y material particulado. El aire exterior y el suelo también son una fuente de contaminante de aire interior. La concentración y forma de los contaminantes de aire de interior se ve afectada por su deposición, resuspensión, coagulación, ventilación, cambio de fase [24] y reacción entre los contaminantes y otras sustancias como el vapor de agua.

Además, nuevas actividades industriales han emergido en las cuales las exposiciones a los agentes biológicos pueden ser abundantes. Ejemplo de estas actividades son la industria recicladora de residuos, las plantas de tratamiento de agua, industria textil o de papel. Los trabajadores en estas industrias están expuestos a niveles de concentración de microorganismos altos y varios estudios

han indicado que una alta prevalencia causa los síntomas respiratorios e inflamación de vías respiratorias [25].

Otro ejemplo es la producción de sustancias biológicas altamente puras como las enzimas que son potenciales promotores de manifestaciones de tipo alérgico. Además, el extenso uso de antibióticos ha acelerado el desarrollo de patógenos resistentes a dichas sustancias lo cual puede incrementar el riesgo de enfermedades infecciosas en personas [6].

Los edificios con protecciones aislantes y la pobre ventilación también ha creado ambientes con elevados niveles de exposición a material particulado de origen biológico (principalmente hongos) y varios estudios sugieren que una porción significativa de las enfermedades emergentes está relacionada con dichas exposiciones en los ambientes de interiores.

El problema de la calidad del aire interior es complejo ya que hay una vía de acceso múltiple a los humanos (inhalación, absorción dérmica, ingesta de alimentos) y multicomponente (varios componentes gaseosos, distribución del tamaño del número de aerosol, masa y composición química) en interiores.

1.2 Tipos de contaminantes

Los contaminantes se pueden clasificar como primarios y secundarios. Los primarios son emisiones directas a la atmósfera (NO_2 , CO_2 , CO , partículas) y los secundarios son formados por reacciones fotoquímicas con otros compuestos que ya están presentes en la atmósfera (O_3 , H_2SO_3). Otra clasificación es por su estado físico (sólidos, líquidos y gaseosos), como se muestra en la Figura 1, y una última clasificación es por familias químicas: compuestos inorgánicos del carbono; compuestos derivados del azufre; hidrocarburos; compuestos de nitrógeno; oxidantes fotoquímicos; metales; y partículas. En la Tabla 1 se muestran los principales contaminantes de aire.

Los contaminantes particulados, los cuales son toda aquella materia con un tamaño entre $0.0002 \mu\text{m}$ y $500 \mu\text{m}$ y en conjunto se designan como Partículas Suspendidas Totales (PST) pueden estar constituidas de un gran número de sustancias como elementos biológicos (ver tabla 1). Las partículas menores a $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) y $2.5 \mu\text{m}$ ($\text{PM}_{2.5}$) por ser de las de mayor penetración al sistema respiratorio e impacto en la visibilidad atmosférica son consideradas las más dañinas. Dentro de este tipo de contaminantes se encuentran:

- Humo
- Fumos
- Cenizas volantes
- Niebla
- Aerosoles
- Bioaerosoles

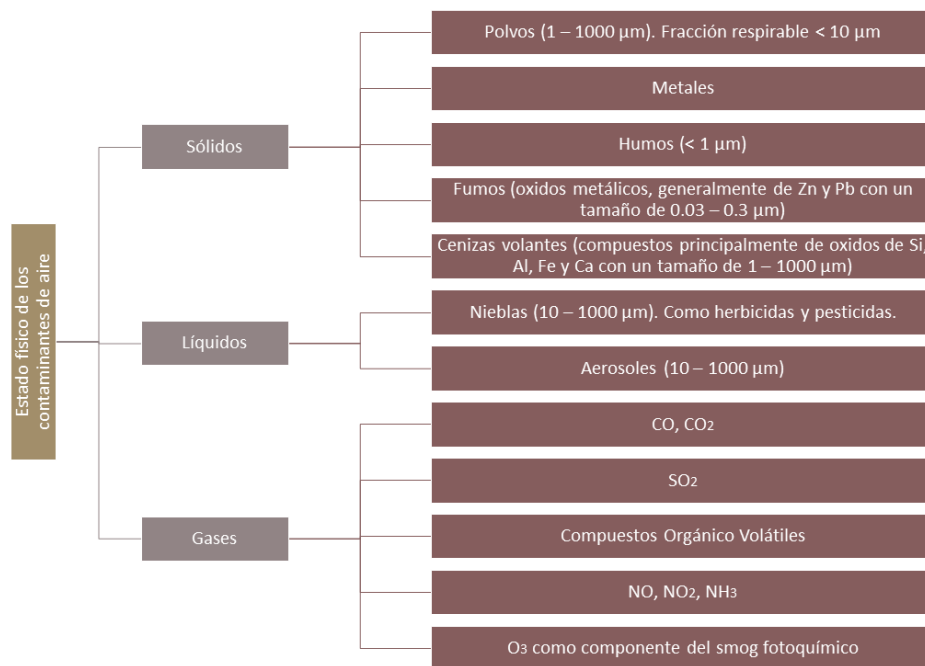


Figura 1. Estado físico de los contaminantes de aire [23].

Tabla 1. Contaminantes criterio del aire y sus efectos en el ambiente y la salud.

Tipo de contaminante	Fuente	Efectos	LMP	Normatividad aplicable en México
Monóxido de carbono (CO) [23]	-Combustiones incompletas (quema de biomasa o de compuestos orgánicos). -Componente de los gases de escape de vehículos automotores -Respiración de seres vivos	Es altamente afín a la hemoglobina lo que provoca la formación de carboxigemoglobina y disminuye la oxihemoglobina y altera el sistema nervioso central y funciones psicomotoras, disminuye agudeza visual, altera las funciones cardiacas y pulmonares.	11.00 ppm en un periodo de 8 hrs.	NOM-021-SSA1-1993
Dióxido de carbono (CO ₂) [26]	Combustiones de biomasa o compuestos orgánicos. Respiración de seres vivos.	No es tóxico, pero puede causar asfixia por desplazamiento de oxígeno en los seres vivos. Contribuye a la formación de la lluvia ácida y	300-400 ppm (recomendado por la normatividad en España)	-

		calentamiento global.		
Óxidos nitrosos (NOx, NO, NO ₂) [23], [27]	Combustiones a más de 1,100°C y por oxidación de nitrógeno atmosférico.	Smog fotoquímico (principalmente por el NO ₂). Irritación de vías respiratorias, bronquitis y neumonía. Inhibe el crecimiento de plantas, clorosis y caída prematura de hojas.	0.21 ppm en una hora de exposición	NOM-023-SSA1-1993
Partículas Suspendidas Totales [23]	Actividades industriales, erosión, polen de plantas, combustiones, incendios y organismos	Agravan el asma y enfermedades respiratorias cardiovasculares. La exposición prolongada puede incrementar el riesgo a la morbilidad, mortalidad y enfermedades crónicas degenerativas.	Partículas menos a 10 micras: 150 µg/m ³ en un periodo de 24 horas.	NOM-025-SSA1-1993 (Partículas PM10 y PM2.5)

LMP = Límite Máximo Permissible

1.3 Tratamientos para contaminantes atmosféricos

El tratamiento de corrientes gaseosas contaminadas se ha realizado principalmente por métodos fisicoquímicos como lo es la filtración, condensación, sorción, vitrificación e incineración. Los tratamientos fisicoquímicos son ampliamente usados para concentraciones superiores a los 10 g/m³ de contaminantes. Debido a que existe una gran diversidad de procesos como la sorción, crio-condensación, incineración o condensación, los flujos para el tratamiento de contaminantes son muy diversos ya que los procesos se han desarrollado con flujos de 10 m³/h hasta 100,000 m³/h [28]. Sin embargo, usualmente los reactivos químicos con los que se realizan dichos procesos son costosos al igual que los usos energéticos. En la mayoría de las ocasiones no es posible regenerar los reactivos y se pueden llegar a emitir gases de efecto invernadero [28].

Por lo anterior se han desarrollado procesos biológicos que pueden operar con las mismas velocidades de flujo que los procesos fisicoquímicos pero con cargas o concentraciones de contaminantes inferiores a los 7 g/m³ y económicos que involucran la degradación de los contaminantes de la corriente de aire a compuestos más simples o incluso se puede llegar a la mineralización de los mismos. Los

biorreactores que se han usado en industrias para la remoción de COVs u olores han sido los biofiltros, biofiltros de goteo, filtros rotatorios de tambor, biorreactores de membrana o de emulsión de espuma y bioabsorbentes [28], [29].

Actualmente se han desarrollado estudios donde se comprueba que los procesos biológicos emiten bioaerosoles que son contaminantes que pueden llegar a ser más perjudiciales para la salud que los propios COVs (ver Tabla 2). Los biorreactores pueden actuar como medios de retención o de emisión de bioaerosoles. La cantidad de bioaerosoles emitidos por los procesos biológicos depende de las condiciones de operación que se desarrollen durante el proceso como la temperatura, humedad, presencia o ausencia de nutrientes y sustrato, lo anterior, afecta directamente a la formación de las biopelículas y por consecuencia afecta al desprendimiento o retención de microorganismos en los biorreactores [1]–[3]. En la Tabla 2 se muestran estudios que se han realizado para la cuantificación de bioaerosoles emitidos por biofiltros.

Tabla 2. Reporte de emisión de bioaerosoles por procesos biológicos.

Proceso	Bioaerosoles cuantificados	Método de muestreo	Método de análisis
Tratamiento de vapores de tolueno usando dos biofiltros con diferente empaque (tezontle y perlita) [3].	6.4×10^5 - 1.3×10^8 células/m ³ de aire.	Impactación en medio líquido con un flujo sónico de 12.5 L/min y Buffer de fosfatos como medio de impactación	Microscopia de epifluorescencia con los fluorocromos Calcofluor-White (hongos y esporas), Yoduro de hexidium y Syto 13 (bacterias Gram-negativas y Gram-positivas)
Biofiltros fúngicos para el tratamiento de vapores de pentano [1].	1.8×10^4 – 4.5×10^3 UFC/m ³ de aire	Filtración con una membrana de una mezcla hidrofílica de esterres de celulosa (poro de 0.45 µm y 47 mm de diámetro).	Las membranas fueron colocadas en placas petri con agar dextrosa papa (PDA, por sus siglas en inglés) y encubadas a 30°C durante 5 días.
Tratamiento de vapores de clorobenceno mediante el sistema híbrido de fotodegradación y biofiltración [2].	60- 1.38×10^3 UFC/m ³ aire	Impactación en medio líquido con buffer de fosfatos de una sola etapa	El líquido del impinger fue colocado en placas petri con agar de extracto de levadura, peptona y carne. Las placas se incubaron a 37°C durante 48 horas.
Remoción simultánea de SO ₂ y o-xileno en un solo biofiltro [30]	262-392 UFC/m ³ aire	Impactador Andersen de un sola etapa con un flujo de 28.3 L/min	Conteo en placa petri con agar
Tratamiento de vapores hexano	2.1×10^3 – 9.0×10^4	Filtración con una membrana de una mezcla hidrofílica de	Las membranas fueron colocadas en placas petri con agar dextrosa papa

mediante biofiltración [31]	la UFC/m ³ de aire	esteres de celulosa (poro de 0.45 μm y 47 mm de diámetro).	(PDA, por sus siglas en inglés) y encubadas a 30°C durante 5 días.
-----------------------------	-------------------------------	--	--

2. BIOAEROSOLES

Los bioaerosoles se definen como partículas suspendidas en el aire provenientes de material biológico [32]. Consisten de bacterias, hongos, virus, partículas de peso molecular alto, alergénicos, endotoxinas (provenientes de bacterias), micotoxinas (provenientes de hongos), peptidoglicanos (provenientes de bacterias y hongos), β(1->3)-glucanos, polen y fibras de planta [6], [33].

Por lo anterior, los bioaerosoles tienen diferentes propiedades físicas y químicas que se muestran en la Tabla 3, entre ellas se mencionan la carga eléctrica negativa, composición elemental, además, la mayoría de los bioaerosoles se encuentran en un tamaño respirable, es decir, en el que se muestra en la Figura 2 [32], [33].

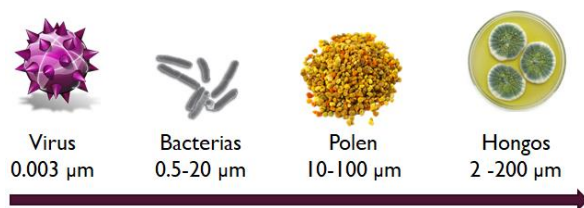


Figura 2. Ordenes de magnitud para algunos componentes de los bioaerosoles.

Tabla 3. Propiedades físicas y químicas de los bioaerosoles

Propiedades Físicas	Propiedades Químicas
Tamaño o diámetro aerodinámico: 0.003 μm – 200 μm (Las células procariotas tienen un tamaño menor de 2 μm y las eucariotas tienen un tamaño dentro de un rango de 2 – 200 μm) [34].	Compuestos de nitrógeno, sodio magnesio, aluminio, fósforo, silicio, azufre, cloro, potasio, calcio y carbono, principalmente [34]. Las membranas de los bioaerosoles están compuestas de ácido teitoico, ácido lipoteitoico, fosfolípidos, polisacáridos como la quitina y proteínas con grupos funcionales con carga eléctrica negativa [35], [36].
Carga eléctrica: negativa por los grupos funcionales de los compuestos que se encuentran en las membranas o sustancias de lisis celular [36].	Las células procariotas incluyen los organismos que tienen pared celular compuesta por peptidoglucano, entre ellos las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Las bacterias Gram-Positivas pueden esporular [34].
Textura: rugosa para las células y lisa para las sustancias de lisis celular [34].	

Morfología: esférica, bastones o bacilos, filamentosa, vibriosa y espirilosa [6], [33].	Las células eucariotas pueden contener pared celular pero no contienen peptidoglucano, como los hongos y protozoarios [6], [33].
---	--

Existen dos tipos de factores que influyen en la presencia y concentración de bioaerosoles en un ambiente o lugar determinado, estos factores son las características físicas de los bioaerosoles y los factores ambientales [7].

Dentro de las características físicas se incluye el tamaño, densidad y forma de las gotas (endotoxinas o micotoxinas) o partículas, mientras los factores ambientales incluyen el contenido de humedad relativa, densidad del aire, temperatura, velocidades de intercambio de aire, actividades humanas. La temperatura y humedad relativa favorecen el crecimiento microbiano en un sustrato adecuado por lo que actúan como una fuente de bioaerosoles [32], [37]. En la Tabla 4 se muestran los principales géneros de microorganismos a los que estamos expuestos.

Debido a su ligero peso, los bioaerosoles suspendidos en el aire pueden ser transportados, transferidos y desplazados de un ambiente a otro con facilidad. La intensidad de luz, magnitud de corrientes de aire, dirección y velocidad del viento también son parámetros importantes que afectan la concentración, transporte y desplazamiento de los bioaerosoles, también se pueden ver afectados por sistemas de calentamiento, ventilación y aire acondicionado [33]. Por lo anterior, los microorganismos son ubicuos en nuestro ambiente.

Tabla 4. Principales tipos de microorganismos que están potencialmente presentes dentro de los edificios (Tabla modificada de Goyer et al. 2001).

BACTERIAS		HONGOS Y MICOTOXINAS	
Gram Negativas	Gram Positivas	<i>Acremonium</i> sp.	--
<i>Acinetobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Legionella (eau)</i> <i>Enterobacter</i> <i>Escherichia</i> <i>Moraxella</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Xanthomonas</i>	<i>Arthrobacter</i> <i>Micrococcus</i> <i>Bacillus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Kocuria</i> <i>Streptococcus</i>	<i>Alternaria</i> sp.	<i>A. alternata</i> : alternariol, ácido tenuazónico
		<i>Aspergillus</i> sp.	<i>A flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> : aflatoxinas, citrinitina <i>A. clavatus</i> : citocalasinas <i>A. fumigatus</i> : fumitremorginas, gliotoxina <i>A. niger</i> : oxalic acid <i>A. ochraceus</i> : ocratoxinas <i>A. versicolor</i> : esterigmatocistina
Bastonadas y Actinomicetos	Levaduras	<i>Aureobasidium</i> sp.	--
		<i>Botrytis</i> sp.	--
		<i>Cladosporium</i> sp.	Ácido epiclospórico, cladosporina

<i>Corynebacterium</i> <i>Norcardiopsis</i> <i>Mycobacterium</i> <i>Streptomyces</i> <i>Saccharopolyspora</i> <i>Thermoactinomyces</i>	<i>Candida</i> <i>Trichosporon</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Torulopsis</i> <i>Rhodotorula</i>	<i>Epicoccum sp.</i>	Flavipina, epicorazinas, indol-3-acetonitrilo
		<i>Fusarium sp.</i>	Fumonisin, tricotecenos: T-2, vomitoxina, zearalenona
		<i>Penicillium sp.</i>	<i>P. expansum</i> : citrinina, patulina <i>P. griseo-fulvum</i> : griseofulvinas <i>P. viridiatum</i> : griseofulvinas, ocratoxinas <i>P. polonicum</i> : verrucosidina

2.1 Efectos de la emisión de bioaerosoles en la salud

Los riesgos a la salud aparecen cuando las concentraciones de algunas especies son altas ($10^2 - 10^4$ UFC/m³) tales como las que han presentado las bacterias filamentosas, de la especie *Legionella pneumophila*, del género *Mycobacterium*, *Staphylococcus* o bacterias entéricas [32].

Se pueden identificar tres grupos principales de enfermedades asociadas a la exposición de bioaerosoles: enfermedades infecciosas, enfermedades respiratorias y cáncer. Las enfermedades infecciosas y respiratorias son las más comunes, sin embargo, también se han descrito casos de abortos y efectos inmunológicos hormonales en mujeres expuestas a micotoxinas [6]. Dentro de las enfermedades infecciosas las más representativas son la gripa, influenza y tuberculosis [38].

Las enfermedades respiratorias o manifestaciones de tipo alérgico son las que comprenden asma, rinitis, conjuntivitis, neumonías hipersensitivas, fiebre de los humidificadores. Dichas afectaciones han sido atribuidas a diversos microorganismos entre los que se pueden destacar las bacterias filamentosas (*Thermoactinomyces vulgaris*, *Micropolyspora faeni*); los bacilos Gram negativos (*Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*); los hongos (*Penicillium*, *Aspergillus*, *Altemaria*) y los protozoarios (*Naegleria gruberi*, *Acanthamoeba*) [6], [38], [39].

También se han desarrollado casos de enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, inflamación en pulmones crónica causadas por bacterias, hongos y esporas, archeas, alérgicos, y endotoxinas que no están dentro de la fracción de bioaerosoles cultivables [38].

Los hongos pueden causar reacciones de hipersensibilidad gracias a las proteínas antigénicas que liberan, por lo que se desarrollan alergias, conjuntivitis, irritación nasal y asma. Los hongos también pueden causar infecciones de tres tipos: sistemática, oportunista y superficial [32]. La mayoría de las infecciones, especialmente aspergilosis, pueden ocurrir en hospedadores con deficiencias en el sistema inmunológico o como una infección secundaria la cual es causada por la

inhalación de esporas fúngicas o por micotoxinas producidas por el hongo *Aspergillus* [7].

Los hongos pueden liberar micotoxinas y COVs que causan inmunodepresión, dolores de cabeza, irritación, náuseas, mareo y fatiga entre otros [32],[7]. Por otro lado, las bacterias pueden liberar endotoxinas que también son asociadas a diferentes problemas de salud como fiebre, obstrucción de pulmones o problemas gastro intestinales [32].

El cáncer puede ser causado por una variedad de factores incluidos los virus oncogénicos y otros agentes biológicos. Hasta la fecha, los únicos agentes cancerígenos biológicos no víricos claramente establecidos, son las micotoxinas como la alatoxina de *Aspergillus flavus*, o la ochratoxina A. Ambas micotoxinas pueden entrar en contacto con los humanos vía inhalación o ingestión. El cáncer que se puede desarrollar por los bioaerosoles es en el tracto biliar, glandula salival y múltiples mielomas, también como estomacales, cerebrales, leucemia y de próstata [6].

2.2 Normatividad aplicable a los bioaerosoles

Existe normatividad con respecto al muestreo de bioaerosoles, como es la norma de AENOR, UNE-CEN/TS 16115-1:2013 sobre calidad del aire, que describe la medición de mohos en aire ambiente a fin de identificar, cuantificar y caracterizar la contaminación por bioaerosoles en aire ambiente. El Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH, por sus siglas en inglés) también describe las metodologías de muestreo y medición de bioaerosoles por métodos de cultivo dependiente.

La Organización Mundial de la Salud (WHO) ha establecido que el valor límite de exposición (ELV) de bioaerosoles en aire de interiores debe ser menor a las 300 UFC/m³. Sin embargo, las respuestas de los seres humanos a los diferentes microorganismos y fragmentos de los mismos suspendidos en el aire varían desde efectos inocuos hasta enfermedades graves, dependiendo del agente específico y de los factores de susceptibilidad de cada persona. Se debe tomar en cuenta que las concentraciones medidas de los bioaerosoles, tanto los microorganismos como sus fragmentos, depende del método de toma de muestra y análisis, por lo que no es posible evaluar todos los componentes de los bioaerosoles utilizando un único método de muestreo y análisis de muestras [32], [33], [40].

A pesar de los inconvenientes mencionados, algunos valores para algunos criterios de evaluación, aunados a los de la WHO, han sido propuestos para ayudar a evaluar la exposición significativa a los bioaerosoles. Estudios escandinavos sugieren que los límites de exposición laboral deberían ser: 5-10x10³ UFC/m³ para microorganismos totales, 1x10³ UFC/ m³ para bacterias Gram-negativas y 1-2x10² ng/m³ para endotoxinas, donde 1 ng es equivalente a 15 unidades de endotoxinas [41].

La comunidad científica concuerda que la comparación de especies y las concentraciones de bioaerosoles encontradas en espacios de interiores con respecto a los ambientes exteriores es una indicación útil en determinar si existe una proliferación en sitios de interiores que afectan la calidad de aire de interior. Si la concentración de bioaerosoles en interiores es alta (mayor a $10^2 - 10^4$ UFC/m³) o las especies son diferentes, una generación o proliferación de bioaerosoles es posible. Esta aproximación es recomendada para hongos y bacterias [32]. Los niveles de referencia son de 10,000 UFC/m³ para bacterias totales y 1,000 UFC/m³ para bacterias Gram negativas [32], [40]. Se debe recordar que los límites están basados en métodos cultivables y no toma en cuenta las bacterias no cultivables y endotoxinas que también causan daños a la salud.

2.3 Muestreo y caracterización de bioaerosoles

En general, la eficiencia de muestreo de cualquier dispositivo es el producto de la aspiración, la transmisión y la eficiencia de la recolección; cada uno de los cuales depende del diámetro aerodinámico de las partículas, de la velocidad del viento, de la dirección así como de la característica de entrada, la cual depende por sí misma de las partículas de bioaerosoles muestreadas bajo diversas condiciones [7], [42]. Los dispositivos utilizados para el muestro de bioaerosoles en el aire se basan principalmente en dos principios; impactación en medios sólidos, semi sólidos o líquidos y filtración [25], [33], [40]. Existen otras técnicas alternativas de muestreo como lo son el muestreo por gravedad, precipitación electrostática, precipitación electrostática y muestreo por ciclón [7].

Los muestreadores por impactación y filtración recolectan los microorganismos por medio de choques con medios colectores (agar, filtros, gelatina). La impactación se logra por medio de la aspiración del aire y el cambio de dirección del mismo, lo que provoca que las partículas de alta inercia se impacten sobre las superficies o medios colectores [33]. Posteriormente los microorganismos se cultivan a condiciones de humedad y temperatura adecuadas y después se cuenta el crecimiento de colonias en las placas [7], [43], [44].

Estos métodos de impactación en medio sólido o semisólido tienen una eficiencia de recolección inferior al 50% (especialmente para esporas) y también afecta la viabilidad de microorganismos sensibles al estrés. Otra desventaja se encuentra en la sobrecarga por microorganismos en las placas de agar que vuelve difícil o imposible el conteo de colonias, así mismo también se asocian problemas de humedad o desecación del medio de impactación, lo que reduce el área disponible de impactación y limita la cantidad de bioaerosoles que se pueden muestrear [44], [45]. Los problemas de evaporación o desecación del medio también se presentan en ciclones, que cuando se operan de manera correcta, tienen una eficiencia de colección superior al 70%.

2.3.1 Impactación en medio líquido

Los métodos basados en impactación en medio líquido operan de una manera similar a los métodos de impactación en medio sólido, a excepción de que los microorganismos son colectados en un medio líquido [33]. El muestreo se realiza con impingers estériles y la manera de operar es mediante la succión de una corriente de aire que se hace pasar a través de un tubo capilar (Figura 5), el tubo está diseñado para reducir las lesiones celulares cuando el aire se dispersa a través del líquido de impactación [40].

Cuando el aire choca con el líquido lo hace de manera tangencial, es decir, los bioaerosoles se disgregan por inercia y el burbujeo causado cuando chocan con el líquido de impactación y la corriente de aire, que contiene los bioaerosoles, penetra en el impinger y son obligados a cambiar de dirección quedando suspendidos y atrapados en el líquido [46].

El líquido de impactación debe ser un líquido isotónico o una solución buffer para evitar el estrés osmótico que se pueda presentar en los microorganismos que son colectados. Se suelen agregar otras sustancias como anticongelantes, antiespumantes o proteínas para mejorar el muestreo al reducir el estrés celular y la evaporación del líquido [40]. El volumen del líquido con el que habitualmente se hacen los muestreos es de 15 a 20 mL [46]. Los muestreadores operan mediante la extracción de bioaerosoles a caudales nominales entre 28.3 y 12.5 L/min a través de un tubo de entrada [40], con un tiempo típico de muestreo de 10-30 min [7], [40].

Este método de muestreo ha sido evaluado y comparado con otros, como los de impactación en medio sólido, semisólido y filtración y se ha demostrado que causa menor estrés celular, mantiene un porcentaje superior al 75% de células frágiles viables, como *Escherichia coli*, o 93% de células resistentes viables como *B. subtilis*. Además, las células retenidas en el líquido de impactación pueden ser analizadas, posteriormente, por medio de métodos de cultivo dependientes e independientes como la citometría de flujo con fluorocromos [47], [48].

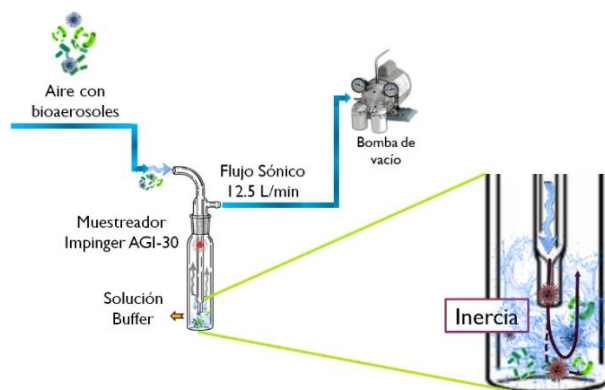


Figura 3. Método de muestreo de bioaerosoles por medio de impingers e impactación de la corriente de aire que contiene los bioaerosoles con el líquido de los impingers

En la Tabla 2 se muestran algunos estudios que han cuantificado la emisión de bioaerosoles por diferentes métodos de muestreo y caracterización. Se puede observar que el estudio para el tratamiento de vapores de tolueno usando dos biofiltros con diferente empaque reporta ordenes de magnitud hasta 5 órdenes de magnitud superiores a otros estudios debido a la técnica de muestreo por impigement y la cuantificación de bioaerosoles por epifluorescencia, técnica de cultivo independiente.

2.4 Técnicas de caracterización

Los métodos de caracterización de bioaerosoles se dividen en métodos de cultivo dependiente e independiente.

2.4.1 Métodos de cultivo independiente

Una técnica de cultivo dependiente puede permitir la caracterización de microorganismos presentes en bajas concentraciones y con microorganismos cultivables. Después del muestreo se cultivan colonias de bacterias y hongos sobre un medio de cultivo definido a una temperatura y durante un periodo de 3-7 días. Las colonias se cuentan manualmente y se reportan como Unidades Formadoras de Colonia (UFC) o con la ayuda de técnicas de análisis de imágenes.

La gran desventaja es que no todos los medios de cultivo son aptos para la gran diversidad de microorganismos suspendidos en el aire ya que dependen de las características del medio y de las condiciones ambientales, por lo que por medio de este método no se pueden analizar la biodiversidad del aire, tampoco se pueden analizar los fragmentos o las endotoxinas y micotoxinas que podría contener la muestra. Además, las técnicas de cultivo dependiente tienden a infravalorar las concentraciones de microorganismos por, al menos, 2 órdenes de magnitud y es poco reproducible [33].

Lamentablemente, la mayoría de las investigaciones se han realizado con métodos de cultivo dependiente, sin embargo, solo el 10% del total de bioaerosoles en cualquier ambiente es cultivable [38].

2.4.2 Métodos de cultivo independiente

Los métodos de cultivo independiente no están limitados por condiciones ambientales ni medios de cultivo específicos como los dependientes, por esta razón representan una gran ventaja sobre los dependientes. Dentro de estos métodos se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (RCPc), microscopia de epifluorescencia, enfoques metagenómicos, bioluminiscencia de ATP y la citometría de flujo.

Las ventajas de la RCPc, enfoques metagenómicos y la bioluminiscencia de ATP radican en que se pueden identificar microorganismos específicos o grupos de microorganismos por medio “primers” o iniciadores de cadenas genéticas, así como reacciones REDOX con el ATP, lo que hace posible la cuantificación total de los bioaerosoles suspendidos en el aire y su identificación genética. Sin embargo, las

principales desventajas son que no se pueden identificar si los bioaerosoles son viables o no y si se usan *primers* estándar se tienen que realizar ensayos de prueba y error para detectar microorganismos que no se han reportado [38]. Otra desventaja es que se requiere de experiencia en técnicas de bioinformática para poder dilucidar las secuencias.

Por otro lado, con la microscopia de epifluorescencia se requiere la tinción de las muestras de bioaerosoles con fluorocromos específicos con los cuales se puede cuantificar la totalidad de las células, así como su viabilidad y los metabolitos que se han producido por daño celular. La desventaja es que la eficiencia de cuantificación se ve limitada por la especificidad de los fluorocromos y que en ocasiones los fluorocromos se pueden unir a material abiótico que se puede confundir con bioaerosoles no viables, además la cuantificación e identificación usualmente se hace de manera manual lo que implica errores humanos [7]. Así, en la Figura 10 se muestra un resumen de las técnicas para el muestreo y posterior el análisis de bioaerosoles.

2.4.2.1 Citometría de flujo

Los bioaerosoles colectados con impingers, ciclones o filtros se pueden contar mediante citometría de flujo ya que para su análisis se requiere que la muestra de bioaerosoles esté en medio líquido, después se tiñen con diferentes fluorocromos como con 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI), naranja de tiazol, naranja de acradina, yoduro de propidio, Quinolinio, 4-[(3-metil-2(3H)-benzoxazolilideno)metil]-1-[3(trimetilamonio)propil]-, yoduro (YOPRO-1) o mediante la hibridación fluorescente in situ (FISH, por sus siglas en inglés), este último implica el uso de sondas de ácido nucleico marcadas con fluorocromos para dirigir ARNr dentro de células morfológicamente intactas, permitiendo la determinación taxonómica de reino a especie[6], [47]. En un citometro de flujo, a medida que el flujo de la muestra, previamente marcada con fluorocromos, pasa a través de un rayo láser, se mide la cantidad de luz dispersada por cada célula, que depende del tamaño de las partículas y de la presencia o ausencia de características de superficie celular específicas.

Las principales ventajas de la citometría de flujo es que tanto los microorganismos viables, no viables y con daño celular se pueden cuantificar rápidamente (miles de células por segundo), los efectos de selección son limitados, el muestreo de aire es posible y el tiempo de muestreo se puede variar en un amplio rango. Las desventajas incluyen procedimientos laboriosos y complicados, altos costos por muestra, ausencia de detección de componentes tóxicos o alergénicos o restos celulares posiblemente relevantes, y, al igual que en la microscopia de epifluorescencia, se pueden confundir las células con polvo o viceversa, lo que puede ocasionar una cuantificación errónea. Lo anterior se puede superar con fluorocromos específicos y con experiencia durante la operación del citometro de

flujo para la calibración del equipo mediante los fluorcromos seleccionados y perlas fluorescentes de conteo [6], [7], [47].

Por otro lado, los constituyentes o metabolitos de microorganismos se pueden medir como una estimación de la exposición microbiana. Los componentes micotóxicos o endotóxicos pueden ser medidos mediante la PCR o tecnologías basadas en inmunoensayos. Algunos marcadores para la evaluación de biomasa fúngica incluyen la medición del ergosterol por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC-MS) [6], [33].

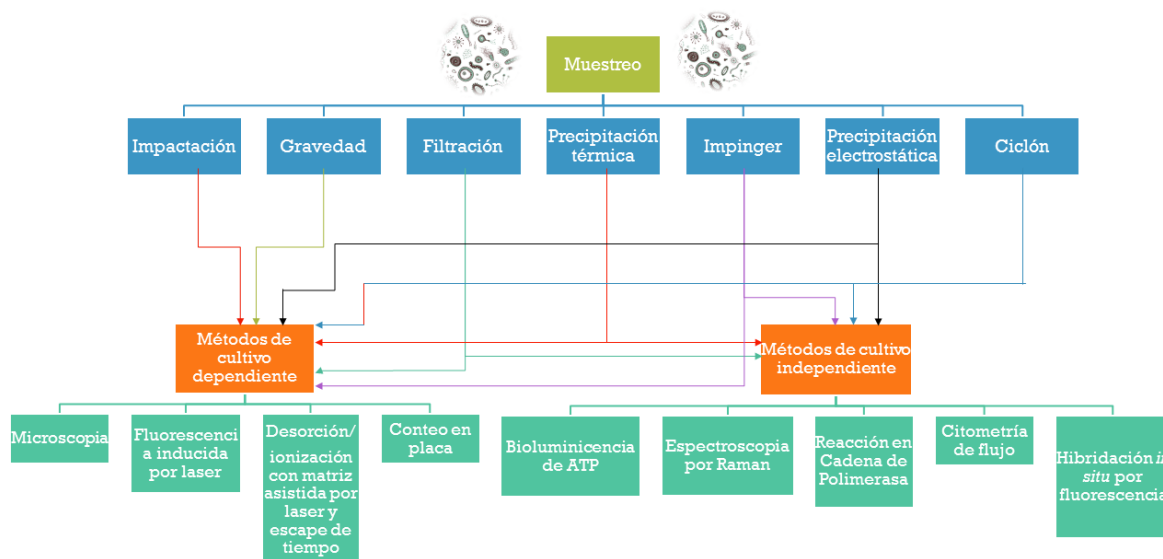


Figura 4. Diagrama de flujo de los métodos de muestreo de bioaerosoles y su posterior técnica de identificación o análisis. Imagen modificada de Mandal y Brandl (2011).

2.5 Tecnologías de tratamientos de bioaerosoles en aire

Controlar las fuentes de emisión y desarrollar tecnologías de remoción de contaminantes particulados y gaseosos han sido estrategias efectivas para el tratamiento de la contaminación atmosférica.

Para la contaminación de aire de interiores por bioaerosoles incrementar la ventilación puede ser efectivo para controlar el material particulado (PM_{2.5} y PM₁₀), pero existen otros tratamientos como la precipitación electrostática (método físico), la filtración, ozonación a bajos niveles, aislamiento por presurización o el empleo de lámparas germicidas UV [13], [49], [50]. Actualmente, existe una nueva tendencia para el control de los contaminantes por la oxidación fotocatalítica [49] usando diferentes catalizadores.

Se han hecho estudios combinando diferentes métodos o tecnologías para los tratamientos de contaminantes de aire de interiores los cuales serán discutidos a continuación [49], [50].

2.5.1 Procesos físicos

Los procesos físicos son aquellos que no modifican la estructura de los microorganismos, los pueden retener con ayuda de los filtros o con la ionización de aire o precipitación electrostática, o bien, pueden realizar una purga diluyendo así la concentración de los bioaerosoles que contaminan el aire de interiores. Los procesos físicos se describen a continuación.

2.5.1.2 Ventilación

Se conocen sistemas de calentamiento, ventilación y de aire acondicionado (HVAC) altamente eficientes que mantienen las condiciones cómodas para las personas o bien, mantienen las condiciones necesarias para diferentes procesos. La ventilación en los edificios es usualmente realizada por los HVAC a través de la extracción del aire contaminado por lo que estos dispositivos facilitan la purga de los bioaerosoles que se encuentran en el aire interior. Los sistemas de HVAC permiten el flujo de aire fresco de exteriores que ha sido previamente filtrado y térmicamente tratado dentro del mismo sistema. Sin embargo, los filtros que se usan en los sistemas HVAC tienden a acumular sobre su tiempo de vida media materia orgánica, polvo, así como los bioaerosoles y presentan además las mejores condiciones de humedad y temperatura para que los microorganismos proliferen; por lo que se convierten así en las principales fuentes de emisión de bioaerosoles [9], [51]–[55].

Por lo anterior es esencial que se asegure que estos filtros no se volverán una fuente de bioaerosoles bajo condiciones específicas de alta humedad, mantenimiento deficiente o acumulación de compuestos orgánicos que podrían fungir como fuente de carbono y/o energía para los microorganismos en los sistemas de filtración, refrigeración o calentamiento y humidificadores [21], [56].

Los sistemas de HVAC requieren de mejoras como implementar una capacidad de limpieza propia o regeneración para que no se conviertan en fuentes de bioaerosoles o de subproductos que puedan dañar la salud de los humanos. Por lo anterior, se han realizado estudios donde se demuestra que dichos sistemas HVAC necesitan de un aditamento como agentes antimicrobianos, ionizadores de aire o sistemas fotocatalíticos para no ser una fuente de bioaerosoles. Por lo que Pigeot-Remy y col. (2014) [9] estudiaron un sistema HVAC equipado con filtros (celulosa y poliéster) impregnados con TiO₂-P25 e irradiados con UV-C (254nm) y UV-A (365 nm) para la inactivación fotocatalítica de *E. coli*. El análisis de células fue realizado por conteo en placa, micrografías del microscopio de barrido y microscopia de epifluorescencia, determinando que se tenía una concentración inicial de células de 1x10⁵ UFC/m³ y se logró una eficiencia de inactivación del 99%.

Huang y col. (2008) [8] desarrollaron un sistema HVAC acoplado a un ionizador de aire para producir iones unipolares y donde los bioaerosoles aerolizados en el laboratorio (*E. coli*, esporas de *B. subtilis*, *A. niger* y el virus de *Influenza*), muestreados por impactación líquida y analizados por cultivo dependiente, fueron removidos por el sistema alcanzado hasta una eficiencia de hasta 4 a 5 veces mayor

para la bacteria y 3 veces mayor para hongos comparada con el sistema HVAC sin ionizador.

Por otro lado, Sung y col. (2011) [57] realizaron un estudio en lote de la inactivación de bioaerosoles impregnados en un sistema HVAC equipado con nanopartículas de Ag/TiO₂ irradiadas con luz UV-A (365 nm). El estudio se realizó en un Museo y en una unidad médica de enfermería (Taiwan) durante el verano donde el muestreo de bioaerosoles se hizo por métodos de impactación en medio semisólido (agar) y medio líquido. El análisis se hizo por conteo en placa y por PCR. Se demostró una concentración inicial de bacterias de 506 y 596 UFC/m³ para el museo y la unidad médica, respectivamente. Con el equipo colector se retiene el 92 y 74% de las bacterias que podrían ingresar al museo y a la unidad médica, respectivamente. Sin embargo, no se muestran análisis de inactivación de bioaerosoles.

2.51.2 Filtración

Existen filtros con alta eficiencia en partículas (HEPA, por sus siglas en inglés) y están compuestos de láminas delgadas de diferentes materiales como fibra de vidrio, latex y acrílico [21], [58], pueden además estar compuestos de multicapas hechas de materiales no tejidos como celulosa o poliéster. Las capas o laminas tienen alrededor de 0.42 mm hasta 2.5 mm [9]. Los filtros HEPA pueden remover partículas de tamaño de 300 nm con una eficiencia de hasta 99.97% [11].

Xie y col. (2010) [59] probaron un filtro HEPA como control de bioaerosoles en un gimnasio en Beijing durante el verano. El muestreo se realizó por impactación en medio sólido y el análisis se realizó por cultivo dependiente en agar de extracto de malta para hongos y de soya tripticaseína para bacterias. Se tuvo una concentración inicial de hongos de 1505 UFC/m³ y 895 UFC/m³ para bacterias. En el estudio demostraron que existe una correlación de variables entre la presencia de humanos y el aumento en la concentración de bioaerosoles y una vez que se activaba el sistema de filtrado disminuyó la concentración en un promedio de 50%, pero las pruebas solo fueron realizadas durante periodos de una hora, por lo que no se comprueba que los filtros se pueden convertir en fuente de bioaerosoles debido a la acumulación de sustrato y condiciones ambientales.

Actualmente, las investigaciones dirigidas con fotocatalizadores para el tratamiento de bioaerosoles han empleado diferentes tipos de materiales filtrantes adaptando los filtros HEPA a los fotorreactores y aumentando la eficiencia del proceso de fotocátalisis [4], [16], [19], [21], [50]. Si los filtros HEPA no son operados con ningún otro tipo de tecnología o solo se usan en los sistemas HVAC, se convierten en una fuente de microorganismos [11], [19].

Por lo anterior se han realizado estudios para evaluar su eficiencia cuando operan con otro tipo de tecnología, como el dopaje con sustancias antimicrobianas o sistemas fotocatalíticos. Por ejemplo, Han y col. (2015) [52] adicionaron extracto de semilla de tonronja (EST) como agente antimicrobiano a un filtro de tereftalato de etileno (PET). La concentración del EST fue de 94 µg/cm². El filtro fue probado con

la cepa *Staphylococcus aureus*. La cepa fue erolizada y nebulizada y muestreada por impactación líquida. Se fijó una concentración inicial de 1×10^4 UFC/m³ y los filtros retuvieron más del 96.5% de las bacterias. Gracias al EST se inactivaron el 75% de las UFC/m³ [52].

2.5.1.3 Ionización de aire

El aire ionizado consiste en partículas cargadas eléctricamente. Cuando el aire está ionizado, la punta de los materiales conductores se descarga rápidamente. Cuando una molécula de gas pierde electrones se convierte en un ion positivo. Siempre existen algunos iones positivos y electrones libres en el aire. La intensidad del campo eléctrico cerca de una parte puntiaguda de un conductor cargado, provoca el movimiento de las partículas con carga del aire: los electrones en una dirección y los cationes en dirección contraria. Los violentos choques con las moléculas gaseosas les arrancan electrones produciendo más iones positivos [60].

Esta técnica también es conocida como precipitación electrostática o ionización negativa del aire y es una tecnología que se ha utilizado para mejorar la calidad de aire de interior con dispositivos comerciales e incluso desarrollando metodología con filtros HEPA y fotocatalisis [13].

Aunque el aire ionizado puede reducir la viabilidad de las bacterias en el aire, este método tiene desventajas como la generación de ozono en altas concentraciones por la producción de iones, además los electrones se pueden acumular en las superficies cargándolas eléctricamente [10]. Algunos dispositivos comerciales han regulado la producción de ozono a una concentración máxima de 0.05 ppb, pero se recomienda no tener este tipo de dispositivos operando en espacios cerrados durante mucho tiempo ya que es una molécula alotrópica de oxígeno y tiene un fuerte poder oxidante, por lo que, a una concentración de 0.02 ppm, puede causar irritación (ocular y en vías respiratorias), así como la hiperactividad del aparato respiratorio, broncoconstricción y edema pulmonar cuando se sobrepasa una concentración de 9 ppm [23].

Los estudios mencionados involucran el uso de bioaerosoles sintéticos. Los bioaerosoles sintéticos son partículas biológicas provenientes de cultivos con microorganismos (bacterias, hongos y virus) de especies y concentraciones conocidas como *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium* [61], *Staphylococcus epidermidis* o *Bacillus subtilis* [19] que son comúnmente encontradas en aire ambiente. Los bioaerosoles sintéticos son generados cuando se someten a equipos que aerolizan las soluciones para poder deshidratarlas y posteriormente son sometidos a equipos nebulizadores que emiten los microorganismos con una humedad controlada y en forma de gotas.

Por lo que es importante considerar que un porcentaje del daño o la inactivación de las células que se reporta en algunos de los estudios puede ser ocasionado por el estrés que se ocasiona sobre los microorganismos con los flujos de aire, velocidad de aerosolización y desecación causada por el nebulizador.

2.5.2 Procesos Térmicos

Recientemente, la inactivación microbiana vía tratamiento térmico se ha utilizado en sistemas de flujo continuo como un método seguro y eficaz que no utiliza ozono, iones o medios filtrantes. El calor seco involucra la exposición a altas temperaturas sin necesidad de humedad para el tratamiento de bioaerosoles, durante periodos cortos de tiempo en un sistema de flujo continuo.

Jung y col., (2009) desarrollaron un estudio donde se utilizaron temperaturas de 350 °C a 400 °C durante 2 segundos para eliminar la viabilidad de esporas de *Aspergillus versicolor* y *Cladosporium cladosporioides*. El mismo procedimiento reduce la cantidad de (1->3)- β -D-glucano de los hongos suspendidos en el aire. También se expusieron células de *E. coli* y *B. subtilis* a una temperatura de 160°C a 350 °C donde se encontró el 99.9% de inactivación y fue necesaria la exposición térmica de 200°C para causar un decremento de 9.2% en las endotoxinas de *E. coli* y de 700°C para las endotoxinas de *B. subtilis* en un tiempo de 3 segundos de exposición para cada temperatura [10]. Sin embargo, por las altas temperaturas que se requiere alcanzar durante periodos cortos de tiempo en sistemas continuos esta tecnología para tratamiento de bioaerosoles, física y económicamente, es inviable por la pérdida de energía.

2.5.3 Procesos químicos

Dentro de los compuestos químicos que pueden dañar los agentes microbianos son los halógenos de yodo y de cloro, estos son de gran importancia por su eficiencia. La desinfección halógena es un método de esterilización química en la que la oxidación de los componentes celulares y la halogenación de las proteínas celulares ocurre. El yodo se ha usado extensamente como un desinfectante en los tratamientos de agua potable e in situ, y es conocido por sus características de almacenamiento y estabilidad química [11].

Se conoce una sustancia patentada derivada del 4-trimetil-amono-metil (PMT) para producir complejos estables antimicrobianos de iones I_3^- y I_5^- . Los compuestos estables fueron usados como resinas en un filtro HEPA para el tratamiento de microorganismos suspendidos en el aire, los cuales exhibieron una reducción de microorganismos de dos órdenes de magnitud por la formación de especies poli yódicas, especies HOI y la espontánea disociación del I_2 que se adhería a la resina insoluble [11].

Por otro lado, el cloro es un desinfectante que se ha usado extensamente en tratamientos de agua, es efectivo y poco costoso, pero se buscan alternativas de este desinfectante por los compuestos cancerígenos que pueden formar con la materia orgánica, específicamente los ácidos húmicos y fragmentos celulares [62].

Además, se ha estudiado el efecto del dióxido de cloro (ClO_2) para la desinfección de bioaerosoles en cafeterías donde asistieron estudiantes en Taiwan, por lo que se determinó una concentración inicial de bacterias y hongos de 972.5 +/- 623.6 and 1534.1 +/- 631.8 UFC/m³, respectivamente antes de aplicar el ClO_2 , después de la

aplicación del mismo se logró una desinfección de 65% y 30% para bacterias y hongos respectivamente con una sola aplicación del halogeno [63]. Los desinfectantes halogenados, aunque se ha demostrado su eficiencia, son corrosivos e irritantes por lo que su manejo debe hacerse de acuerdo a las normas de seguridad e higiene que se establezcan en cada país.

2.5.4 Procesos de Oxidación avanzada fotoiniciados

2.5.4.1 Ozonación

El ozono tiene un potencial de oxidación más alto que el cloro, por lo que puede ser un agente antimicrobiano más efectivo. El ozono es un alotropo del oxígeno y la actividad antimicrobiana se debe a su alto potencial de oxidación de +0.27 V. Los subproductos de las reacciones entre la materia orgánica y el ozono son mucho menos tóxicos que aquellos producidos con el cloro, aunque a altas concentraciones la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA, por sus siglas en inglés) lo ha identificado como una sustancia potencialmente dañina.

Algunas formas vegetativas de los microorganismos como bacterias y virus han demostrado ser altamente sensibles ante factores al aire libre como el O₃. Se ha demostrado que la exposición al ozono o al ciclohexano puede dañar las proteínas y ADN de los microorganismos, dando como resultado la inactivación de los mismos [64].

Todas las células contienen triptófano en el ADN y en algunas proteínas, por lo que dichos compuestos se pueden marcar con marcadores fluorescentes y cuantificar las células. Los efectos del ozono en la fluorescencia del triptófano en solución han sido reportados mostrando como la fluorescencia decrece significativamente cuando los microorganismos que contienen los marcadores son excitados a 263 nm en la presencia de concentraciones de 0, 150 y 300 ppb y a humedades relativas de 20%, 50% u 80%. La fluorescencia decrece por la oxidación del triptófano a N¹-formil kynurenine (NF) y kynurenine (KY) debido a la presencia de ozono y a vapor de agua, así se comprueba la efectividad de la inactivación de bioaerosoles por el contacto con el ozono y los compuestos con triptófano que contienen las células, es decir, a menor fluorescencia, mayor efectividad de inactivación de bioaerosoles ocasionada por el O₃ [64], [65].

2.5.4.2 Fotólisis

La irradiación ultravioleta (UV) es un método ampliamente usado para el control de bioaerosoles y así como sistema para mejorar la calidad del aire interior. La desinfección UV típicamente elimina eficazmente bacterias entéricas, virus, esporas bacterianas y quistes parasitarios, sin residuos químicos, suspendidos en el aire [15].

Debido a que los microorganismos son particularmente vulnerables a las longitudes de onda de luz cercanas a los 2537 Angstroms, que es la máxima absorción de longitud de onda de las bases nitrogenadas purina y pirimidina que conforman la

molécula de ADN (253.7 nm) [42], y, como consecuencia la molécula de ADN se modifica o se rompe, por lo que eventualmente muere el microorganismo. Por lo anterior, se han hecho diversos estudios para evaluar la efectividad que tiene la irradiación de rayos UV sobre las células de los bioaerosoles, y, dentro de los factores que afectan la efectividad de la irradiación germicida UV se encuentran las especies de los microorganismos, humedad, nivel y duración de irradiación, la posición y edad de la lámpara de irradiación, así como los patrones de aire como se muestra en la Tabla 6 [42].

Lin y col., (2010) [66] demostraron que para inactivar esporas de hongos se requiere una dosis 80 veces mayor que la que se requiere para inactivar bacterias, aún en estado vegetativo o como esporas de *B. subtilis*. Del mismo modo demostraron que a mayor humedad relativa disminuía la capacidad de inactivación de microorganismos debido a que la humedad es un factor ambiental benéfico para la proliferación de microorganismos por su actividad de agua o su higrocapacidad, que es un factor proporcional al diámetro aerodinámico de las células. Es decir, a mayor diámetro aerodinámico mayor higrocapacidad y menos susceptibilidad a la incidencia de rayos UVC, por lo que cuando aumenta la humedad relativa del ambiente disminuye la eficiencia de inactivación por este método [12], [67].

Kujundzic y col. (2007) [67] implementaron la irradiación UVC (254 nm) en un sistema HVAC para la inactivación fotolítica de *Aspergillus versicolor* y *Mycobacterium parafortuitum*, con un tiempo de reacción de 14 min y una concentración inicial de 1.4×10^4 UFC/m³, alcanzando una inactivación de 75% y 87%, respectivamente. Lo anterior se logró por el tiempo de exposición a la irradiación y la baja concentración de las cepas.

Tabla 5. Estudios realizados para evaluar la efectividad de la irradiación UV sobre bioaerosoles

Longitud de onda y dosis de irradiación	Concentración inicial	Microorganismos evaluados	Tiempo de exposición	Método de muestreo	Eficiencia de remoción (%)	Referencias
UVC 10.6 $\mu\text{W}/\text{cm}^2$	1.4×10^4 UFC/m ³	<i>Aspergillus versicolor</i> y <i>Mycobacterium parafortuitum</i>	14 min	Impactación en medio líquido durante 26 min	75% inactivación para <i>A. versicolor</i> y 87% de inactivación para <i>M. parafortuitum</i>	Kujundzic y col. (2007) [67].
UVC (254 nm) 1,017 – 89,419 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$	30 – 300 UFC/m ³	<i>E. coli</i> en estado vegetativo (1,017-2,356 $\mu\text{W s}/\text{cm}^2$) <i>B. subtilis</i> (15,949 -19,345 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$) <i>Candida famata</i> (12,917 -17,497 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$) <i>Penicillium citrinum</i> (47,984 - 89,419 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$)	0.825 segundos	Muestreo en medio semisólido (Anderson de 1 etapa)	Mayor de 99%	Lin y col. (2010) [66].

UVC (253.7 nm) y UVA (360 nm) 1,600 $\mu\text{Ws}/\text{cm}^2$	50-200 UFC/m ³	Bacterias: <i>Staphylococcus</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Micrococcus</i> <i>Kocuria</i> y <i>Bacillus</i> Hongos: <i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Aure-</i> <i>obasidium</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Mucor</i>	0.12 segundos	Muestreo en medio semisólido (Anderson de 2 etapas)	76 \pm 10 y 30 \pm 26 para bacterias con UVC y UVA, respectivamente No hubo una reducción significativa en hongos ni con UVC ni UVA	Sánchez y col (2012) [61].
---	---------------------------	--	------------------	---	---	----------------------------------

En la tabla 5 se demuestra que a menos cantidad de UFC se requiere un tiempo de exposición a la irradiación menor, excepto para hongos por su compleja y resistente pared celular [61]. Sánchez et al. (2012) demostraron que la irradiación UVC (253.7 nm) es efectiva contra bacterias aun en periodos cortos de exposición, excepto para aquellas que forman endosporas resistentes como las bacterias del genero *Bacillus* donde no se vió una inactivación significativa, así como para los hongos, por lo que es necesario aumentar la dosis de irradiación, así como el tiempo de exposición [68], [69].

Para inactivar a los bioaerosoles también es necesario considerar el tiempo de contacto, en función del tipo de movimiento y velocidad del flujo de aire, con la radiación UV y esto puede aumentar la eficiencia de inactivación hasta 5 órdenes de magnitud [12]. La desventaja de utilizar la irradiación UV como método de desinfección es su falta de efecto bactericida y la posibilidad de fotorreactivación oscura de microorganismos dañados por UV, lo que permite la reactivación de la población microbiana bajo ciertas condiciones de temperatura, humedad y actividad enzimática [12], [14]–[16].

2.5.4.3 Fotocatálisis

La fotocatálisis heterogénea es un proceso que se basa en la absorción directa o indirecta de energía radiante (visible o UV) por un sólido, normalmente un semiconductor de banda ancha. La naturaleza de un material fotocatalítico determina la absorción de fotones y la subsecuente producción, recombinación y migración de carga [50]. La fotocatálisis heterogénea es un proceso en el cual se distinguen dos fases, la fase sólida del semiconductor y la fase del fluido (líquido o gaseoso) donde se desarrolla el proceso.

Los fotocatalizadores comunes son a base de óxidos de metal. Cuando la energía absorbida de los fotones es igual o mayor a la banda prohibida (band gap) de los semiconductores se logra la excitación del material para transferir los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción así como la producción de electrones huecos positivos en la banda de valencia, con esto, se logran producir los radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), los cuales son altamente reactivos y son consideradas las especies oxidantes dominantes que contribuyen a la mineralización de las células microbianas [4], [17] mediante el rompimiento de la membrana celular, la pared celular, la oxidación de las proteínas (desnaturalización) y el daño al ADN [70].

Se ha estudiado la fotocatalisis como método de desinfección de agentes patógenos en el agua como alternativa al uso de agentes químicos (Cl^- , cloroaminas, O_3) que reaccionan con la materia orgánica y forman subproductos de desinfección que son altamente tóxicos para los seres humanos.

Los estudios del daño que causan las nanopartículas de óxidos de metal y fotocatalisis evaluados en agua demuestran que el efecto bactericida para lograr la desinfección se debe a los métodos de síntesis de las nanopartículas, tamaño de las nanopartículas, irradiación con luz UVC/UVA o solar, potencia y dosis de irradiación, tiempo de irradiación, concentración del catalizador y si el catalizador se encuentra funcionalizado o dopado con alguna otra sustancia. Los factores anteriores influyen significativamente en la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) y por ende en la inactivación de bioaerosoles, así como evitar su posterior recuperación y reproducción como en los estudios demostrados con fotolisis.

Dos de los principales catalizadores que se han estudiado y que se ha demostrado su alta efectividad de producción de ROS son el TiO_2 y el ZnO ya que pueden liberar tres tipos de radicales en medio acuoso (radical superóxido, radical hidroxilo y el oxígeno). Dichos radicales contribuyen al rompimiento de la membrana celular, la pared celular, la oxidación de las proteínas (desnaturalización) y causan daño al ADN, aunado a lo anterior los iones de zinc que se liberan al medio también contribuyen significativamente a la degradación de las células de los microorganismos y a la interrupción de la cadena transportadora de electrones [71], [72], [73], [74].

El efecto de la liberación de iones en el medio acuoso se puede observar cuando los catalizadores son funcionalizados con otros elementos como la plata, el cobre, silicio, etc, por lo que los iones liberados participan en la inactivación de células [75].

Kikuchi y col. (1997) [76] estudiaron el efecto fotocatalítico para la inactivación de bacterias gram positivas y negativas con TiO_2 irradiado con UVA (365 nm). Determinaron que los mecanismos de inactivación fueron la producción de especies reactivas de oxígeno que interactúan con las células (ROS), daño en la membrana celular y pared celular, interrupción de la cadena transportadora de electrones y daño al ADN y proteínas. Además, demostraron que el catalizador es capaz de inactivar ambos tipos de bacterias, pero debido a que las bacterias gram positivas como *B. subtilis*, forman esporas, es necesario excitar el TiO_2 con longitudes de onda de 253.7 nm o doparlo con otras sustancias para disminuir su band gap y aumentar la eficiencia de liberación de ROS.

Por otro lado, Li y col. (2012) [70] desarrollaron un proceso fotocatalítico para la inactivación de *E. coli* con TiO_2 y ZnO excitados con irradiación UVA (365 nm) durante dos horas de exposición con una dosis de 5616 mW s/cm^2 . Así, demostraron que se generan 3 tipos de ROS: radical superóxido (O_2^-), radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) y

oxígeno (O_2) además de la liberación de iones de Zn^{2+} que causó la muerte celular de 1×10^7 UFC/mL de *E. coli*.

Gracias al éxito que se ha tenido con la fotocatalisis para la desinfección de medios acuosos se han hecho estudios sobre la inactivación de bioaerosoles en aire (ver Tabla 6). Desafortunadamente, las humedades relativas altas en el aire (superiores al 60%) no solo reducen la probabilidad de que los microorganismos tengan contacto con las especies oxidantes producidas de los fotocatalizadores como lo son los $\cdot OH$, sino que también proveen sitios para que los microorganismos se escondan y sobrevivan. Una cantidad excesiva de moléculas de agua pueden ocupar los sitios reactivos de la superficie del catalizador y subsecuentemente reducir la eficiencia de la oxidación fotocatalítica por la desactivación del catalizador [17], [19]. En la Tabla 6 se describen algunos estudios que se han realizado con sistemas fotocatalíticos.

Rodrigues-Silva y col. (2017) [20] desarrollaron un proceso de inactivación fotocatalítico de cepas definidas de bioaerosoles (*Psuedomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Aspergillus fumigatus*) con un TRG de 18 s y con 9 capas de nanopartículas de TiO_2 impregnados en soportes de acetato de celulosa. Rodrigues-Silva y col. (2017) [20] reportaron una eficiencia de inactivación de 88 – 98% para bacterias (concentración inicial de 10^6 UFC/mL) y de 80% para el hongo (concentración inicial de 10^4 UFC/mL). Por lo que se determinó que, si se desea obtener una mayor eficiencia de inactivación de bioaerosoles, en el presente estudio es necesario desarrollar un proceso con un TRG mayor y con una mayor cantidad de catalizador impregnado en la perlita.

Tabla 6. Estudios realizados con procesos fotocatalíticos para la inactivación de bioaerosoles

Sistema fotocatalítico	Longitud de onda de activación	Microorganismos evaluados	Eficiencia de inactivación (%)	Referencias
Filtro HEPA dopados con TiO_2 P-25	UVA 1mW/cm ² (365 nm)	<i>Aspergillus niger</i> y <i>Penicillium citrinum</i> a una Co = 1×10^5 UFC/mL	20% de inactivación fue por UVA y resto por fotocatalisis	Chuybamroong y col. (2010) [19].
		<i>Staphylococcus epidermis</i> y <i>Bacillus subtilis</i> a una Co = 1×10^7 UFC/mL	Se inactivaron 60% de los hongos y 80% de las bacterias	
Filtro eléctrico, impregnado con TiO_2 , ioniza el aire..	UVA 7.4 y 31.8 mW/cm ² (365 nm)	<i>Escherichia coli</i> <i>Endosporas B. subtilis</i> <i>Candida famata</i> <i>Endosporas B. subtilis</i> <i>Penicillium citrinum</i>	Sin eficiencia de inactivación significativa	C. Y. Lin y C. S. Li (2003) [49].
Membrana hidrofílica impregnada con TiO_2 .	Dos lámparas de 8W con una longitud de onda de 365 nm durante 2.95 min	<i>E. coli</i> <i>B. subtilis</i> <i>Microbacterium sp.</i> Co=30-300 UFC/mL	Se inactivo más del 90%	Pal y col. (2005) [5].
Filtros HEPA impregnados con TiO_2	UVA (365 nm) y UVC (253.7 nm) durante 2-17 horas.	<i>E. coli</i> Co= 1.5×10^8 UFC/mL	Se inactivaron el $97 \pm 1.8\%$ de las células	Pigeo-Remy y col. (2013) [9], [21].
		<i>Aspergillus niger</i> (esporas) Co= 1×10^7 UFC/mL	Inactivación del 90%	
Películas delgadas de (polímero) con	Luz visible (405 nm) durante 2 horas	<i>Staphylococcus aureus</i> Co= $1-5 \times 10^5$ UFC/mL	Se logró inactivar el 99%	Tallósy y col. (2014) [77].

Ag/TiO ₂ Ag/ZnO	y			
Fotocatálisis con de TiO ₂ -P25 evaluadas gas (sistema continuo)	UVA (365 nm)	<i>E. coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>S. aureus</i> <i>S. saprophyticus</i> (Co = 1x10 ⁶ UFC/mL) <i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Penicillium spp.</i> (Co = 1x10 ⁴ UFC/mL)	Menos del 14% de inhibición fue causado por la fotólisis. 88 – 98 % de inactivación para bacterias y 80 % para hongos	Rodrigues-Silva y col. (2017) [20].

Co= Concentración inicial

Por otro lado, Sánchez y col. (2012) [61] estudiaron la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles reales con TiO₂, impregnado en Tereftalato de Polietileno (PET), y a un flujo de 180 L/min de un laboratorio de 42 m² ocupado por cinco personas, encontrando una eficiencia de inactivación para bacterias de hasta 76% y sin inactivación significativa para hongos. El estudio fue realizado con impactadores Andersen por lo que el análisis de bioaerosoles involucra métodos de cultivo dependiente y, como consecuencia, subvaloran la concentración y diversidad de los bioaerosoles.

Por lo anterior, las investigaciones realizadas hasta ahora han combinado la fotocatalisis con otras tecnologías para el control de bioaerosoles y para mejorar la calidad de aire interior. La fotocatalisis se ha probado con sistemas HVAC, membranas de microfiltración y filtros HEPA con diferentes cargas de los fotocatalizadores, irradiados con luz ultravioleta, dando como resultados eficiencias de remoción superiores al 88% (Tabla 6). Los sistemas han sido operados en lote o con recirculación de aire, con bioaerosoles sintéticos generados en los laboratorios y nebulizados y analizados con técnicas de cultivo dependiente y se ha demostrado que la fotocatalisis acelera y mejora la eficiencia de inactivación de bioaerosoles, aunque la humedad relativa sea mayor al 65%, contrario a lo que pasa con la fotólisis en la que se reduce la eficiencia de eliminación de bioaerosoles de manera proporcional al aumento de la humedad (Tabla 6).

Una investigación realizada por Chuaybamroong y col. (2010) [19] donde se acopló un filtro HEPA con un sistema fotocatalítico con TiO₂-P25 irradiado a UV-A (365 nm) demostró la inactivación fotocatalítica de diferentes cepas de microorganismos (*Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus subtilis*) aerolizados por un nebulizador. Así, con una concentración inicial de 10⁵-10⁷ UFC/mL en el nebulizador, se encontró que el 60-80% de los microorganismos retenidos en el filtro fotocatalítico fueron inactivados, excepto *S. epidermidis*, cuya inactivación fue de 100%. El sistema se desarrolló en lote y los microorganismos tuvieron un tiempo de exposición de 8 – 10 h. La retención de microorganismos por el filtro HEPA fue superior a 74%. También se observó que, a mayor humedad relativa, la eficacia del sistema fotocatalítico disminuía [19].

Actualmente existe un interés creciente en la síntesis de óxidos de metal transitorios nanoestructurados debido a sus múltiples aplicaciones prácticas que incluyen el desarrollo de materiales de captación de energía solar, efecto loto, materiales de

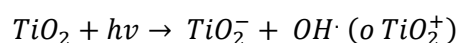
construcción, antioxidantes y antimicrobianos. El alta área superficial de los semiconductores asegura que la interacción entre los microorganismos presentes en el área superficial activa aumente. Los semiconductores que han presentado resaltables propiedades antimicrobianas, bactericidas o biocidas son el oro, la plata, ZnO, MgO, CaO, TiO₂ y CuO, entre otros [78], [79].

Inactivación de microorganismos con TiO₂

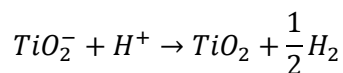
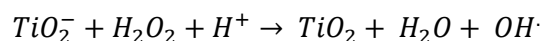
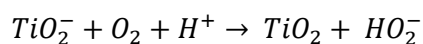
La inactivación fotocatalítica de microorganismos usando TiO₂ ha sido reportada tanto en fase gas como en fase acuosa (ver Tabla 6) [18], [80]. Sus aplicaciones fotocatalíticas se deben a su capacidad de formación de Especies Oxidantes Reactivas (ROS). Sin embargo, su band gap es de 3.2 eV y solo puede excitarse por una fracción pequeña de luz solar, haciéndolo impráctico para su uso bajo condiciones de luz natural.

Los mecanismos que se han propuesto para explicar las reacciones que ocurren con el TiO₂ en contacto con la irradiación UV y los microorganismos se presentan a continuación [14]:

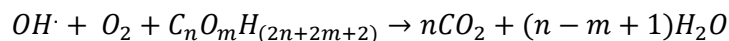
- Formación del par electrón-hueco



- Remoción de electrones de la conducción de banda



- Oxidación de compuestos orgánicos



Inactivación de microorganismos con ZnO

El óxido de zinc nanométrico es un material semiconductor con un ancho de banda (band gap) de 3.37 eV y se ha utilizado para diversos fines, como actividades tanto antimicrobianas como fotocatalíticas (ver Tabla 6) y se ha demostrado que las propiedades antimicrobianas se deben a la combinación de los efectos tóxicos de los iones de Zn²⁺ y el exceso de oxígeno originado en el fotorreactor. Los mecanismos de inactivación especulados en las células bacterianas han sido a nivel membrana y ADN [81].

En la Tabla 6 se muestran los estudios realizados con ZnO con los que se ha demostrado que es capaz de inactivar eficientemente microorganismos patógenos para los humanos aun con irradiación de luz azul (405 nm) o luz visible una vez que se funcionalizó con Flúor (ver Figura 5), respectivamente. Las modificaciones que

se han realizado aumenta la eficiencia de producción de ROS y por ende la eficiencia de inactivación de los microorganismos por el daño a la membrana celular, al ADN y la migración de iones de potasio una vez que ocurre el daño membranal, pero también se ha comprobado que el ZnO por sí mismo y sin irradiación tiene un efecto tóxico sobre las células de los microorganismos lo que potencia su efectividad como agente antimicrobiano [77].

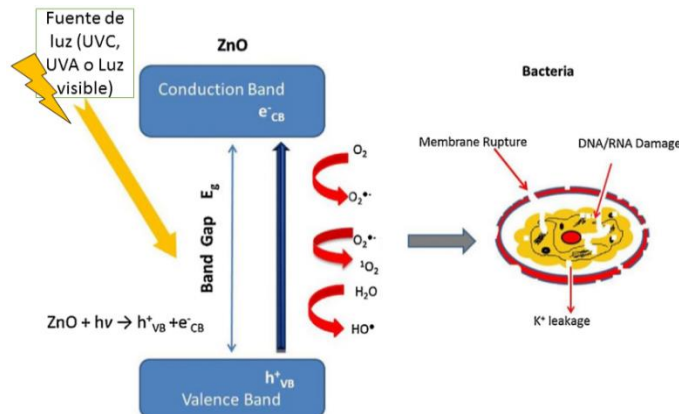


Figura 5. Excitación de ZnO por fuente de luz y liberación de ROS que dañan la membrana y el ADN de los microorganismos, imagen modificada de Podporska-Carroll y colaboradores (2017).

En la Figura 5 se muestra la forma en la que se excitan las nanopartículas de ZnO cuando entran en contacto con la irradiación UVC (254 nm) y UVA (365 nm), lo anterior en función de las partículas o moléculas que se hayan utilizado para dopar el ZnO. Se puede observar que la liberación de electrones y la formación de huecos migran de la banda de valencia a la banda de conductividad liberando las especies reactivas oxidantes que son las que interactúan en gran medida con los bioaerosoles.

2.6 Mecanismos de inactivación de bioaerosoles por procesos de oxidación avanzada

Los posibles mecanismos responsables de la capacidad germicida con métodos fotocatalíticos han sido postulados. Se ha sugerido un decremento de la coenzima A contenida en las células. También se ha comprobado que se puede propiciar un desequilibrio en la cantidad de iones de potasio dentro de la célula, causando un daño a nivel del ARN, y, por tanto, en las proteínas del citoplasma, así como la peroxidación de los lípidos que se encuentran en las estructuras celulares [49].

Otro mecanismo de eliminación propone que la muerte bacteriana es causada por un desorden significativo en la permeabilidad de la membrana y la descomposición de las paredes celulares. Lo anterior sugiere que el daño de la pared celular puede ser consecuencia del daño en la membrana citoplasmática. Los tratamientos fotocatalíticos incrementan progresivamente la permeabilidad de la célula y permite el libre efluente de los constituyentes intracelulares. Partículas libres de TiO₂ pueden

tener acceso y dañar las células y atacar directamente los componentes intracelulares, causando una alteración en la estructura de las proteínas [4].

Con el microscopio electrónico se ha observado que la membrana exterior se descompone primero, seguido del desorden de la membrana citoplasmática y finalmente se observa la descomposición total de las células que son removidas de las superficies recubiertas con TiO_2 , como se muestra en las Figuras 5 y 6 [4].

Las ROS que se producen durante la oxidación fotocatalítica afectan adversamente el genoma y otras moléculas intracelulares causando mutaciones o degradación en el crecimiento [4]. Los posibles daños que pueden ocasionar la irradiación UV, las ROS y las nanopartículas son la peroxidación de la membrana celular y fosfolípidos, oxidación intracelular de la coenzima A y daño directo al ADN así como la lisis celular (Figura 6).

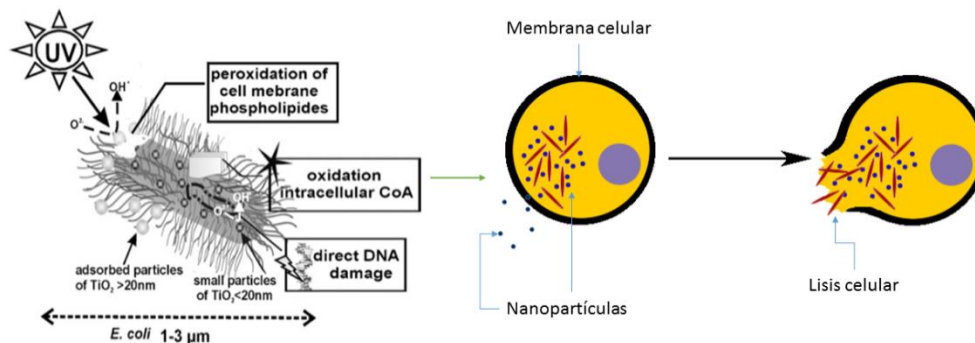


Figura 6. Mecanismos de inactivación de células microbianas por fotocatalisis [81]

Los modelos cinéticos para la degradación microbiana por oxidación fotocatalítica PCO incluyen curvas de supervivencia en respuesta al tiempo de iluminación que se ha usado para describir el proceso de degradación microbiana fotocatalítico. En las curvas de la Figura 7 se muestran tres diferentes regiones que pueden ser identificadas en los procesos: (1) un decaimiento ligero al principio de la reacción, usualmente llamado "shoulder" u hombro, (2) una región de inactivación log-lineal que cubre la mayor parte de la reacción y (3) una desaceleración del proceso al final de la reacción, usualmente llamado "tail" o cola [4].

También se ha estudiado el daño de las nanopartículas en contacto con los bioaerosoles sin activar la irradiación UV y se ha observado que las nanopartículas pueden traspasar la membrana celular debido a su tamaño o por su mimetización de otros iones esenciales para la célula [72]. Así, pueden causar toxicidad dentro de la célula retardando su crecimiento, oxidando las proteínas o bien causando mutación genética y con ello impedir la reproducción celular [37], [82]–[84]

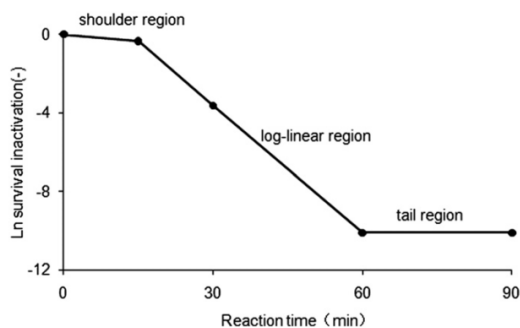


Figura 7. Imagen de tres diferentes regiones en un proceso de degradación microbiana por fotocatalisis (Chen et al. 2010).

3. REFERENCIAS

- [1] A. Vergara-Fernández, V. Salgado-Ísmodes, M. Pino, S. Hernández, and S. Revah, "Temperature and moisture effect on spore emission in the fungal biofiltration of hydrophobic VOCs," *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 47, no. 4, pp. 605–613, 2012.
- [2] C. Wang, J. Y. Xi, and H. Y. Hu, "Reduction of toxic products and bioaerosol emission of a combined ultraviolet-biofilter process for chlorobenzene treatment," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 59, no. 4, pp. 405–410, 2009.
- [3] S. Esquivel-Gonzalez, A. Aizpuru, A. Patrón-Soberano, and S. Arriaga, "Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 123, pp. 78–86, 2017.
- [4] F. Chen, X. Yang, H. K. C. Mak, and D. W. T. Chan, "Photocatalytic oxidation for antimicrobial control in built environment: A brief literature overview," *Build. Environ.*, vol. 45, no. 8, pp. 1747–1754, 2010.
- [5] A. Pal, X. Min, L. E. Yu, S. O. Pehkonen, and M. B. Ray, "Photocatalytic Inactivation of Bioaerosols by TiO₂ Coated Membrane," *Int. J. Chem. React. Eng.*, vol. 3, pp. 1–12, 2005.
- [6] J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik, "Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 47, no. 3, pp. 187–200, 2003.
- [7] B. Ghosh, H. Lal, and A. Srivastava, "Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms," *Environ. Int.*, vol. 85, pp. 254–272, 2015.
- [8] R. Huang, I. Agranovski, O. Pyankov, and S. Grinshpun, "Removal of viable bioaerosol particles with a low-efficiency HVAC filter enhanced by continuous emission of unipolar air ions," *Indoor Air*, vol. 18, no. 2, pp. 106–112, 2008.
- [9] S. Pigeot-Remy et al., "Survival of bioaerosols in HVAC system photocatalytic filters," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 144, pp. 654–664, 2014.
- [10] J. H. Jung, J. E. Lee, and S. S. Kim, "Thermal effects on bacterial bioaerosols in

- continuous air flow," *Sci. Total Environ.*, vol. 407, no. 16, pp. 4723–4730, 2009.
- [11] S. Ratnesar-Shumate *et al.*, "Evaluation of physical capture efficiency and disinfection capability of an iodinated biocidal filter medium," *Aerosol Air Qual. Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–18, 2008.
- [12] C. Chang, S. LI, C. Huang, Y. Chen, and C. Chen, "Effects of ultraviolet germicidal irradiation and swirling motion on airborne *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* under various relative humidities," *Indoor Air*, vol. 23, no. Ultraviolet germicidal irradiation on pathogenic bioaerosols, pp. 74–84, 2012.
- [13] K. P. Yu, G. W. M. Lee, S. Y. Lin, and C. P. Huang, "Removal of bioaerosols by the combination of a photocatalytic filter and negative air ions," *J. Aerosol Sci.*, vol. 39, no. 5, pp. 377–392, 2008.
- [14] D. M. Blake, P.-C. Maness, Z. Huang, E. J. Wolfrum, J. Huang, and W. A. Jacoby, "Application of the Photocatalytic Chemistry of Titanium Dioxide to Disinfection and the Killing of Cancer Cells," *Sep. Purif. Rev.*, vol. 28, no. 1, pp. 1–50, 1999.
- [15] J. Koivunen and H. Heinonen-Tanski, "Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments," *Water Res.*, vol. 39, no. 8, pp. 1519–1526, 2005.
- [16] J. M. C. Robertson, P. K. J. Robertson, and L. A. Lawton, "A comparison of the effectiveness of TiO₂ photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic micro-organisms," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 175, no. 1, pp. 51–56, 2005.
- [17] L. Zhong and F. Haghghat, "Photocatalytic air cleaners and materials technologies - Abilities and limitations," *Build. Environ.*, vol. 91, pp. 191–203, 2015.
- [18] W. A. Jacoby, P. C. Maness, E. J. Wolfrum, D. M. Blake, and J. A. Fennell, "Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 17, pp. 2650–2653, 1998.
- [19] P. Chuaybamroong, R. Chotigawin, S. Supothina, P. Sribenjalux, S. Larpiattaworn, and C. Y. Wu, "Efficacy of photocatalytic HEPA filter on microorganism removal," *Indoor Air*, vol. 20, no. 3, pp. 246–254, 2010.
- [20] C. Rodrigues-Silva *et al.*, "Bacteria and fungi inactivation by photocatalysis under UVA irradiation: liquid and gas phase," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 7, pp. 6372–6381, 2017.
- [21] S. Pigeot-Remy *et al.*, "Inactivation of *Aspergillus niger* spores from indoor air by photocatalytic filters," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 134–135, pp. 167–173, 2013.
- [22] SEMARNAT, "Calidad del aire: una práctica de vida," 2013.
- [23] B. E. Jiménez Cisneros, *La Contaminacion Ambiental En Mexico: Causas, efectos y tecnología apropiada*. 2014.
- [24] M. Lazaridis, *First Principles of Meteorology and Air Pollution*, vol. 19. Springer US, 2011.
- [25] A. Albrecht, K. Kiel, and A. Kolk, "Strategies and methods for investigation of airborne

- biological agents from work environments in Germany.," *Int. J. Occup. Saf. Ergon.*, vol. 13, no. 2, pp. 201–213, 2007.
- [26] F. J. Rey Martinez and J. Velasco Gomez, *Calidad de ambientes interiores*. Paraninfo, 2007.
- [27] SEMARNAT and CECADESU, "Calidad del aire: una práctica de vida," México , 2013.
- [28] Z. Shareefdeen and A. Singh, *Biotechnology for odor and air pollution control*. Germany: Springer US, 2005.
- [29] H. Zare, G. Najafpour, M. Rahimnejad, A. Tardast, and S. Gilani, "Biofiltration of ethyl acetate by *Pseudomonas putida* immobilized on walnut shell," *Bioresour. Technol.*, vol. 123, pp. 419–423, 2012.
- [30] Y. Sun, S. Xue, L. Li, W. Ding, J. Liu, and Y. Han, "Sulfur dioxide and o-xylene co-treatment in biofilter: Performance, bacterial populations and bioaerosols emissions," *J. Environ. Sci. (China)*, pp. 1–11, 2017.
- [31] J. O. Saucedo and S. Arriaga, "Estudio de la degradación de vapores de n-Hexeno mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocatalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2015.
- [32] N. Goyer, J. Lavoie, L. Lazure, and G. Marchand, *Bioaerosols in the workplace: Evaluations, Control and Prevention Guide*. Montréal (Québec): IRSST - Direction des communications, 2001.
- [33] J. Mandal and H. Brandl, "Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations," *Open Environ. Biol. Monit. J.*, vol. 41, no. 1, pp. 83–96, 2011.
- [34] B. E. Rittmann and P. L. McCarty, *Environmental Biotechnology*. Toronto: McGraw-Hill, 2005.
- [35] U. Pöschl, "Atmospheric aerosols: Composition, transformation, climate and health effects," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 44, no. 46, pp. 7520–7540, 2005.
- [36] J. Crittenden, R. Trusell, D. Hand, K. Howe, and G. Tchobanoglous, "Chemical Oxidation and Reduction," in *MWH's Water Treatment*, 2012, pp. 457–539.
- [37] A. D. Estillore *et al.*, "Atmospheric chemistry of bioaerosols: heterogeneous and multiphase reactions with atmospheric oxidants and other trace gases," *Chem. Sci.*, vol. 7, no. 11, pp. 6604–6616, 2016.
- [38] P. Blais-Lecours, P. Perrott, and C. Duchaine, "Non-culturable bioaerosols in indoor settings: Impact on health and molecular approaches for detection," *Atmos. Environ.*, vol. 110, pp. 45–53, 2015.
- [39] A. Hernández Calleja, "NTP 409 : Contaminantes biológicos : criterios de valoración," *Inst. Nac. Segur. e Hig. en el Trab.*, pp. 1–6, 1994.
- [40] NIOSH, "Sampling and Characterization of Bioaerosols," *NIOSH Man. Anal. Methods*, no. 100, pp. 4–7, 2005.
- [41] S. Cointreau, "Occupational and Environmental Health Issues of Solid Waste Management," 2006.

- [42] C.-S. Li, C.-C. Tseng, H.-H. Lai, and C.-W. Chang, "Ultraviolet Germicidal Irradiation and Titanium Dioxide Photocatalyst for Controlling *Legionella pneumophila*," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 37, no. 12, pp. 961–966, 2003.
- [43] H. Mbareche, E. Brisebois, M. Veillette, and C. Duchaine, "Bioaerosol sampling and detection methods based on molecular approaches: No pain no gain," *Sci. Total Environ.*, vol. 599–600, pp. 2095–2104, 2017.
- [44] Y. Zhao *et al.*, "Investigation of the Efficiencies of Bioaerosol Samplers for Collecting Aerosolized Bacteria Using a Fluorescent Tracer. I: Effects of Non-sampling Processes on Bacterial Culturability," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 45, no. 3, pp. 423–431, 2011.
- [45] Y. S. Cheng, "Detection of Bioaerosols Using Multiwavelength UV Fluorescence Spectroscopy," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 30, no. October 2010, pp. 186–201, 1999.
- [46] A. Hernández, "NTP 609: Agentes biológicos: equipos de muestreo (I)," *Inst. Nac. Segur. e Hig. en el Trab. Minist. Trab. y Asuntos Soc. España*, no. 1, 2003.
- [47] P. S. Chen and C. S. Li, "Sampling performance for bioaerosols by flow cytometry with fluorochrome," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 39, no. 3, pp. 231–237, 2005.
- [48] Y. Zheng and M. Yao, "Liquid impinger BioSampler's performance for size-resolved viable bioaerosol particles," *J. Aerosol Sci.*, vol. 106, no. September 2016, pp. 34–42, 2017.
- [49] C. Y. Lin and C. S. Li, "Effectiveness of titanium dioxide photocatalyst filters for controlling bioaerosols," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 170, no. October, pp. 162–170, 2003.
- [50] Y. Boyjoo, H. Sun, J. Liu, V. K. Pareek, and S. Wang, "A review on photocatalysis for air treatment : From catalyst development to reactor design," *Chem. Eng. J.*, vol. 310, pp. 537–559, 2017.
- [51] A. J. Prussin II, D. O. Schwake, and L. C. Marr, "Ten questions concerning the aerosolization and transmission of *Legionella* in the built environment," *Build. Environ.*, 2017.
- [52] B. Han, J. S. Kang, H. J. Kim, C. G. Woo, and Y. J. Kim, "Investigation of antimicrobial activity of grapefruit seed extract and its application to air filters with comparison to propolis and shiitake," *Aerosol Air Qual. Res.*, vol. 15, no. 3, pp. 1035–1044, 2015.
- [53] M. H. Y. Leung, D. Wilkins, E. K. T. Li, F. K. F. Kong, and P. K. H. Lee, "Indoor-air microbiome in an urban subway network: Diversity and dynamics," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 80, no. 21, pp. 6760–6770, 2014.
- [54] C. a. Rocha, R. J. Silva, a. E. Monzon, and J. Alfonzo, "Characterization of Indoor Air Bioaerosols in an Electrical Headquarter Building," *Indoor Built Environ.*, vol. 22, no. 6, pp. 910–919, 2013.
- [55] T. Zorman and B. Jersek, "Assessment of Bioaerosol Concentrations in Different Indoor Environments," *Indoor Built Environ.*, vol. 17, no. 2, pp. 155–163, 2008.
- [56] A. Hernández, "NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización." [Online]. Available: http://www.jmcpri.net/NTPs/@Datos/ntp_313.htm. [Accessed: 11-Jan-2017].

- [57] W. P. Sung, T. T. Tsai, M. J. Wu, H. J. Wang, and R. Y. Surampalli, "Removal of Indoor Airborne Bacteria by Nano-Ag/TiO₂ as Photocatalyst: Feasibility Study in Museum and Nursing Institutions," *J. Environ. Eng.*, vol. 137, no. 3, p. 163, 2011.
- [58] A. M. Rule, J. Kesavan, K. J. Schwab, and T. J. Buckley, "Application of flow cytometry for the assessment of preservation and recovery efficiency of bioaerosol samplers spiked with *Pantoea agglomerans*," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 41, no. 7, pp. 2467–2472, 2007.
- [59] H. Xie, X. Gan, and F. Ma, "Study of air conditioning system with purifier in a gymnasium," *2010 4th Int. Conf. Bioinforma. Biomed. Eng. iCBBE 2010*, pp. 1–4, 2010.
- [60] V. M. Gonzáles C., *Física fundamental*, Cuarta. México: Editorial progreso, S.A., 2004.
- [61] B. Sánchez *et al.*, "Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions," *Chemosphere*, vol. 87, no. 6, pp. 625–630, 2012.
- [62] C. R. Holkar, A. J. Jadhav, D. V. Pinjari, N. M. Mahamuni, and A. B. Pandit, "A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches," *J. Environ. Manage.*, vol. 182, pp. 351–366, 2016.
- [63] C. S. Hsu and D. J. Huang, "Disinfection efficiency of chlorine dioxide gas in student cafeterias in Taiwan," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 63, no. 7, pp. 796–805, 2013.
- [64] S. Ratnesar-Shumate *et al.*, "Fluorescence spectra and biological activity of aerosolized bacillus spores and MS2 bacteriophage exposed to ozone at different relative humidities in a rotating drum," *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 153, pp. 13–28, 2015.
- [65] Y. Le Pan *et al.*, "Effects of ozone and relative humidity on fluorescence spectra of octapeptide bioaerosol particles," *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, vol. 133, pp. 538–550, 2014.
- [66] C. Lin, C. Li, C. Lin, and C. Li, "Control Effectiveness of Ultraviolet Germicidal Irradiation on Bioaerosols," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 6826, no. July, pp. 474–478, 2010.
- [67] E. Kujundzic, M. Hernandez, and S. L. Miller, "Ultraviolet germicidal irradiation inactivation of airborne fungal spores and bacteria in upper-room air and HVAC in-duct configurations," vol. 9, no. May, pp. 1–9, 2007.
- [68] B. U. Lee, "Life Comes from the Air : A Short Review on Bioaerosol Control," pp. 921–927, 2011.
- [69] J. Peccia and M. Hernandez, "UV-Induced Inactivation Rates for Airborne *Mycobacterium bovis* BCG," *J. Occup. Environ. Hyg.*, vol. 9624, no. July, 2010.
- [70] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, and Y. Chen, "Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered," no. 6, pp. 5164–5173, 2012.
- [71] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, and Y. Chen, "Supporting Information For Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered Metal Oxide Nanoparticles," *ACS Nano*, vol. 6, no. 6, pp. 1–

22, 2012.

- [72] B. Wu *et al.*, "Comparative eco-toxicities of nano-ZnO particles under aquatic and aerosol exposure modes," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 4, pp. 1484–1489, 2010.
- [73] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 7, pp. 2325–2331, 2011.
- [74] Y. W. Baek and Y. J. An, "Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*," *Sci. Total Environ.*, vol. 409, no. 8, pp. 1603–1608, 2011.
- [75] V. K. Yemmireddy and Y.-C. Hung, "Using Photocatalyst Metal Oxides as Antimicrobial Surface Coatings to Ensure Food Safety-Opportunities and Challenges," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 16, pp. 617–631, 2017.
- [76] Y. Kikuchi, K. Sunada, T. Iyoda, K. Hashimoto, and A. Fujishima, "Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin films: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect," *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, vol. 106, no. 1–3, pp. 51–56, 1997.
- [77] S. P. Tallósy *et al.*, "Investigation of the antibacterial effects of silver-modified TiO₂ and ZnO plasmonic photocatalysts embedded in polymer thin films," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 21, no. 19, pp. 11155–11167, 2014.
- [78] K. Mageshwari and R. Sathyamoorthy, "Physical properties of nanocrystalline CuO thin films prepared by the SILAR method," *Mater. Sci. Semicond. Process.*, vol. 16, no. 2, pp. 337–343, 2013.
- [79] O. Akhavan, R. Azimirad, S. Safa, and E. Hasani, "CuO/Cu(OH)₂ hierarchical nanostructures as bactericidal photocatalysts," *J. Mater. Chem.*, vol. 21, no. 26, p. 9634, 2011.
- [80] Y. Boyjoo, H. Sun, J. Liu, V. K. Pareek, and S. Wang, "A review on photocatalysis for air treatment: From catalyst development to reactor design," *Chem. Eng. J.*, vol. 310, pp. 537–559, 2017.
- [81] J. Podporska-Carroll *et al.*, "Antibacterial properties of F-doped ZnO visible light photocatalyst," *J. Hazard. Mater.*, vol. 324, pp. 39–47, 2017.
- [82] I. Sondi and B. Salopek-Sondi, "Silver nanoparticles as antimicrobial agent: A case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 275, no. 1, pp. 177–182, 2004.
- [83] V. K. Sharma, R. A. Yngard, and Y. Lin, "Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities," *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 145, no. 1–2, pp. 83–96, 2009.
- [84] J. S. Kim *et al.*, "Antimicrobial effects of silver nanoparticles," *Nanomedicine Nanotechnology, Biol. Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 95–101, 2007.
- [85] M. Y. Menetrez, K. K. Foarde, T. R. Dean, and D. A. Betancourt, "The effectiveness of UV irradiation on vegetative bacteria and fungi surface contamination," *Chem. Eng. J.*, vol. 157, pp. 443–450, 2010.

- [86] I. Covarrubias-García, A. Aizpuru, and S. Arriaga, "Effect of the continuous addition of ozone on biomass clogging control in a biofilter treating ethyl acetate vapors," *Sci. Total Environ.*, vol. 584–585, pp. 469–475, 2017.
- [87] J. O. Saucedo-Lucero and S. Arriaga, "Photocatalytic oxidation process used as a pretreatment to improve hexane vapors biofiltration," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 90, no. 5, pp. 907–914, 2015.
- [88] S. N. Hosseini, S. M. Borghei, M. Vossoughi, and N. Taghavinia, "Immobilization of TiO₂ on perlite granules for photocatalytic degradation of phenol," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 74, no. 1–2, pp. 53–62, 2007.
- [89] K. S. W. Sing *et al.*, "International Union of Pure and Applied Chemistry, Including Catalysis-Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity," *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 603–619, 1985.
- [90] M. Hinojosa, S. Arriaga, and V. Rodríguez, "Estudio de un sistema híbrido de degradación de etilbenceno: oxidación avanzada UV / TiO acoplada a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación científica y Tecnológica, A.C., 2011.
- [91] BD Biosciences, "BD FACSCalibur Flow Cytometry System Fluidics: Technical Specifications," 2010.
- [92] L. M. Vanhee, H. J. Nelis, and T. Coenye, "Rapid detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* in environmental air samples using solid-phase cytometry," *Env. Sci Technol*, vol. 43, no. 9, pp. 3233–3239, 2009.
- [93] T. García, S. Arriaga, F. Alatríste, and A. Aizpuru, "Efecto de la Adición de Pulsos de Ozono Sobre la Composición de la Biopelícula Durante la Biofiltración de Formaldehído," 2012.
- [94] O. of S. and T. E. and A. D. (4303) U.S. Environmental Protection Agency, "Method 1684: Total, Fixed, and Volatile Solids in Water, Solids, and Biosolids," Pennsylvania, Washington, DC., 2001.
- [95] G. R. Christoph, J. F. Hansen, and H. W. Leung, "Subchronic Inhalation Neurotoxicity Studies of Ethyl Acetate in Rats," *Neurotoxicology*, vol. 24, no. 6, pp. 861–874, 2003.
- [96] S. K. Kam, J. K. Kim, and M. G. Lee, "Removal characteristics of mixed gas of ethyl acetate and 2-butanol by a biofilter packed with Jeju scoria," *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 4, pp. 1019–1022, 2011.
- [97] M. Koutinas, L. G. Peeva, and A. G. Livingston, "An attempt to compare the performance of bioscrubbers and biotrickling filters for degradation of ethyl acetate in gas streams," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 80, no. 11, pp. 1252–1260, 2005.
- [98] M. Deshusses, C. T. Johnson, and G. Leson, "Biofiltration of high loads of ethyl acetate in the presence of toluene," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 49, no. 8, pp. 973–979, 1999.
- [99] Y. Liu, X. Quan, Y. Zhao, S. Chen, and H. Zhao, "Removal of ternary VOCs in air streams at high loads using a compost-based biofilter," *Biochem. Eng. J.*, vol. 23, no. 1, pp. 85–95, 2005.
- [100] F. J. Álvarez-Hornos, C. Gabaldón, V. Martínez-Soria, P. Marzal, J. M. Peña-Roja,

- and F. Sempere, "Biofiltration of ethyl acetate under continuous and intermittent loading," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 4, pp. 327–337, 2007.
- [101] J. Saucedo, G. Quijano, and S. Arriaga, "Hexane abatement and spore emission control in a fungal biofilter-photoreactor hybrid unit," vol. 276, pp. 287–294, 2014.
- [102] R. Soret, J. L. Fanlo, L. Malhautier, P. Geiger, and S. Bayle, "Investigation of removal capacities of biofilters for airborne viable micro-organisms," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 15, no. 3, 2018.
- [103] S. Viswanathan, R. Manivasagam, and R. Natarajan, "Biofiltration kinetics of ethyl acetate and xylene using sugarcane bagasse based biofilter," *Chem. Eng. Res. Bull.*, vol. 14, no. 1, pp. 51–57, 2010.
- [104] L. S. Subías, "Listado sistemático, sinonímico y biogeográfico de los ácaros oribátidos (Acariformes, Oribatida) del mundo (175-2002)," *Graellsia*, vol. 60, pp. 3–305, 2004.
- [105] P. Le Cloirec, Y. Andrès, G. Claire, and P. Pré, *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*. Springer US, 2005.
- [106] R. D. Letterman, *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*, vol. 331. 1999.
- [107] S. Agarwal, P. Mandal, and A. Srivastava, "Quantification and Characterization of Size-segregated Bioaerosols at Municipal Solid Waste Dumping Site in Delhi," *Procedia Environ. Sci.*, vol. 35, pp. 400–407, 2016.
- [108] K. Yang, L. Li, W. Ding, and S. Xue, "A full-scale thermophilic biofilter in the treatment of sludge drying exhaust: performance, microbial characteristics and bioaerosol emission," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 0, no. December 2017, 2018.
- [109] M. Schlegelmilch, T. Herold, J. Streese, A. Hensel, and R. Stegmann, "The potential to reduce emissions of airborne microorganisms by means of biological waste gas treatment systems," *Waste Manag.*, vol. 25, no. 9, pp. 955–964, 2005.
- [110] P.-S. Chen and C.-S. Li, "Real-time monitoring for bioaerosols—flow cytometry," *Analyst*, vol. 132, no. 1, pp. 14–16, 2007.
- [111] R. Sathyamoorthy and K. Mageshwari, "Synthesis of hierarchical CuO microspheres: Photocatalytic and antibacterial activities," *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures*, vol. 47, pp. 157–161, 2013.
- [112] K. Mageshwari and R. Sathyamoorthy, "Flower-shaped CuO Nanostructures: Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity," *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 29, no. 10, pp. 909–914, 2013.
- [113] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 7, pp. 2325–2331, 2011.
- [114] G. Madhumitha, G. Elango, and S. M. Roopan, "Biotechnological aspects of ZnO nanoparticles: overview on synthesis and its applications," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 2, pp. 571–581, 2016.
- [115] Z. Wang *et al.*, "Anti-microbial activities of aerosolized transition metal oxide

nanoparticles,” *Chemosphere*, vol. 80, no. 5, pp. 525–529, 2010.

- [116] S. R. Lingampalli, M. M. Ayyub, and C. N. R. Rao, “Recent Progress in the Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide,” *ACS Omega*, vol. 2, no. 6, pp. 2740–2748, 2017.
- [117] Y. Xia, J. Wang, R. Chen, D. Zhou, and L. Xiang, “A Review on the Fabrication of Hierarchical ZnO Nanostructures for Photocatalysis Application,” *Crystals*, vol. 6, no. 11, p. 148, 2016.
- [118] V. Prigione, G. Lingua, and V. F. Marchisio, “Development and Use of Flow Cytometry for Detection of Airborne Fungi,” *Society*, vol. 70, no. 3, pp. 1360–1365, 2004.
- [119] BD Biosciences, “Live and Dead Cell Discrimination BD™ Cell Viability Kit,” 2015.
- [120] BD Biosciences, R. Alsharif, M. Tapia, W. Godfrey, J. Wannlund, and M. Nagar, “Bacterial Disinfectant Efficacy Using Flow Cytometry,” 2001.
- [121] BD Biosciences, “BBL™ Calcofluor White Reagent Droppers,” 2016.
- [122] Universidad de Vigo. Facultad de Biología, “Técnicas Histológicas. 2- Fijación. Fijadores. Atlas de Histología Vegetal y Animal,” *Atlas de Histología Vegeta y Animal*, 2018. [Online]. Available: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/2-fijadores.php>. [Accessed: 22-Jun-2018].
- [123] S. Verdín *et al.*, *Histología e Inmunohistoquímica. Manual de Métodos*. 2013.
- [124] R. J. Watts, S. Kong, M. P. Orr, G. C. Miller, and B. E. Henry, “Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent,” *Water Res.*, vol. 29, no. 1, pp. 95–100, 1995.
- [125] S. L. Daniels, “On the qualities of the air as affected by radiant energies (photocatalytic ionization processes for remediation of indoor environments),” *J. Environ. Eng. Sci.*, vol. 6, no. September, pp. 329–342, 2007.
- [126] J. M. Meichtry *et al.*, “Low-Cost TiO₂ Photocatalytic Technology for Water Potabilization in Plastic Bottles For Isolated Regions. Photocatalyst Fixation,” *J. Sol. Energy Eng.*, vol. 129, no. 1, p. 119, 2007.
- [127] C. B. Ong, L. Y. Ng, and A. W. Mohammad, “A review of ZnO nanoparticles as solar photocatalysts: Synthesis, mechanisms and applications,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 81, no. March 2017, pp. 536–551, 2018.
- [128] K. M. Lee, C. W. Lai, K. S. Ngai, and J. C. Juan, *Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review*, vol. 88. Elsevier Ltd, 2016.
- [129] J. Li, X. Wu, and X. Xu, “Preparation and characterisation of ZnO nanorod array-coated hollow glass microsphere composites,” *Micro Nano Lett.*, vol. 7, no. 4, pp. 363–365, 2012.
- [130] W. Lu, S. Gao, and J. Wang, “One-Pot Synthesis of Ag / ZnO Self-Assembled 3D Hollow Microspheres with Enhanced Photocatalytic Performance,” *Society*, pp. 16792–16800, 2008.
- [131] K. M. Sim, K. H. Kim, G. B. Hwang, S. Seo, G. N. Bae, and J. H. Jung, “Development and evaluation of antimicrobial activated carbon fiber filters using *Sophora flavescens*

nanoparticles," *Sci. Total Environ.*, vol. 493, pp. 291–297, 2014.

- [132] J. O. Saucedo-Lucero and S. Arriaga, "Photocatalytic degradation of hexane vapors in batch and continuous systems using impregnated ZnO nanoparticles," *Chem. Eng. J.*, vol. 218, no. June, pp. 358–367, 2013.
- [133] M. Smits *et al.*, "Photocatalytic degradation of soot deposition: Self-cleaning effect on titanium dioxide coated cementitious materials," *Chem. Eng. J.*, vol. 222, pp. 411–418, 2013.
- [134] D. M. Tobaldi, A. Tucci, G. Camera-Roda, G. Baldi, and L. Esposito, "Photocatalytic activity for exposed building materials," *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 28, no. 14, pp. 2645–2652, 2008.
- [135] M. Zlámál, J. Krýsa, and J. Jirkovský, "Photocatalytic degradation of acid orange 7 on TiO₂ films prepared from various powder catalysts," *Catal. Letters*, vol. 133, no. 1–2, pp. 160–166, 2009.
- [136] L. Pinho and M. J. Mosquera, "Photocatalytic activity of TiO₂-SiO₂nanocomposites applied to buildings: Influence of particle size and loading," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 134–135, pp. 205–221, 2013.
- [137] C. Cárdenas, J. I. Tobón, C. García, and J. Vila, "Functionalized building materials: Photocatalytic abatement of NO_x by cement pastes blended with TiO₂ nanoparticles," *Constr. Build. Mater.*, vol. 36, no. x, pp. 820–825, 2012.
- [138] R. Anicua and G. M. de. Carmen, "Particule size and micromorphological relation on physical properties of perlite and zeolite," *Agric. Técnica en México*, vol. 35, pp. 147–156, 2009.

CAPITULO II

JUSTIFICACIÓN

Los bioaerosoles son contaminantes que degradan la calidad del aire de interiores, cuando se tiene contacto con ellos, pueden ocasionar diversas enfermedades infecciosas (influenza, tuberculosis), respiratorias o manifestaciones de tipo alérgico (asma, rinitis, conjuntivitis, neumonías) y crónicas degenerativas como el cáncer, además de dermatitis, abortos tardíos y efectos hormonales, por lo que es necesario establecer métodos de control de bioaerosoles para purificar el aire de interiores.

Los sistemas fotocatalíticos han sido desarrollados para inactivar bioaerosoles en aire, la gran mayoría de los estudios ha sido enfocada a tratar bioaerosoles que se producen por medio de aerolizadores y nebulizadores que contienen especies biológicas patógenas específicas como bacterias, virus, hongos y esporas de hongos [85]. Otros estudios se han enfocado a inactivar bioaerosoles reales encontrados en aire de interiores, y también para cuantificar bacterias y esporas de hongos emitidas por biofiltros. En estos últimos estudios, la cuantificación de bioaerosoles se ha llevado a cabo por medio de métodos de cultivos dependientes.

Uno de los Compuestos Orgánico Volátiles (COV) ampliamente usados en las industrias de pinturas, barnices, plásticos y caucho es el acetato de etilo por lo que se han estudiado sus efectos en la salud y se ha comprobado que es un compuesto irritante, explosivo y degrada la calidad del aire de interiores ya que tiene un olor penetrante por lo que es dañino para el sistema respiratorio, así, se ha reportado la biofiltración de acetato de etilo. Sin embargo, ha sido documentado que los biofiltros emiten bioaerosoles bajo ciertas condiciones de operación como baja humedad, alta temperatura, altas cargas de alimentación de contaminante o alguna condición de estrés o perturbación. Por lo que, la emisión de bioaerosoles por biofiltros presenta un tipo de contaminación de mayor preocupación que la propia contaminación por COVs o Compuestos Inorgánico Volátiles (CIVs).

Por las razones anteriores, la presente investigación tiene como objetivo desarrollar un proceso fotocatalítico de flujo continuo para la inactivación de bioaerosoles reales emitidos por un proceso de biofiltración y usando semiconductores como ZnO y TiO₂ fotoactivados a una longitud de onda de 254 nm e impregnados en soportes de perlita y poraver. Los bioaerosoles a tratar provienen de un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo.

Debido a que ninguna investigación ha reportado la cantidad de células totales con métodos de cultivo independiente después del tratamiento de bioaerosoles, las mediciones se realizarán por medio de la técnica de citometría de flujo con fluorocromos selectivos al ADN con la finalidad de cuantificar los bioaerosoles viables y no viables.

HIPÓTESIS

- La inactivación de bioaerosoles se producirá con un sistema fotocatalítico basado en ZnO y TiO₂ por la interacción del radical hidroxilo con los bioaerosoles, producidas por la fotoactivación a 254 nm y el propio contacto de los bioaerosoles con las partículas nanométricas de ZnO y TiO₂ provocará un daño en la membrana celular de los bioaerosoles.
- Los catalizadores impregnados en poraver tendrán un tiempo de vida media superior al de los catalizadores impregnados en perlita debido a que la alta retención de agua en la perlita inhibe la producción de radicales oxidantes de los catalizadores.

OBJETIVOS

GENERAL

- Desarrollar un proceso fotocatalítico con ZnO y TiO₂ impregnados en perlita y poraver para la inactivación de bioaerosoles emitidos de un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo.

ESPECÍFICOS

- Determinar la eficiencia de inactivación de bioaerosoles de los procesos fotocatalíticos ZnO y TiO₂ por citometría de flujo.
- Estudiar el daño celular de los bioaerosoles causado por el contacto con las nanopartículas y por el proceso de fotocatalisis por medio de microscopia.
- Caracterizar la actividad fotocatalítica a través del tiempo de las nanopartículas por medio de citometría de flujo y el contenido de humedad retenida por los soportes en los sistemas.

CAPITULO III: METODOLOGÍA

MATERIALES Y MÉTODOS

1. INÓCULO

El consorcio de microorganismos fue obtenido de lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales municipales Tangamanga I en San Luis Potosí, San Luis Potosí. La planta opera con reactores biológicos secuenciales (SBR, por sus siglas en inglés) [3], [86].

El medio mineral estuvo compuesto de (g/L): NaNO_3 , 18; KH_2PO_4 , 1.3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.38; $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.25; y CaCl_2 , 0.055. Se agregaron 200 $\mu\text{L/L}$ de una solución de elementos traza de (g/L): $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.012; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.013; $\text{CuSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.0023; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.0015; y H_3BO_3 , 0.0015 [3], [86]. El medio mineral fue adicionado 2 veces por semana durante los primeros 40 días de operación y posteriormente se cambió la estrategia de riego a 1 vez por semana para mantener la estabilidad del biofiltro.

2. SISTEMA EXPERIMENTAL (BIOFILTRO)

El sistema experimental general se muestra en la Figura 8 y 15 donde se puede observar el uso y operación de un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo y emite bioaerosoles. Los bioaerosoles llegan a un fotorreactor como sistema de post-tratamiento.

Sistema experimental general

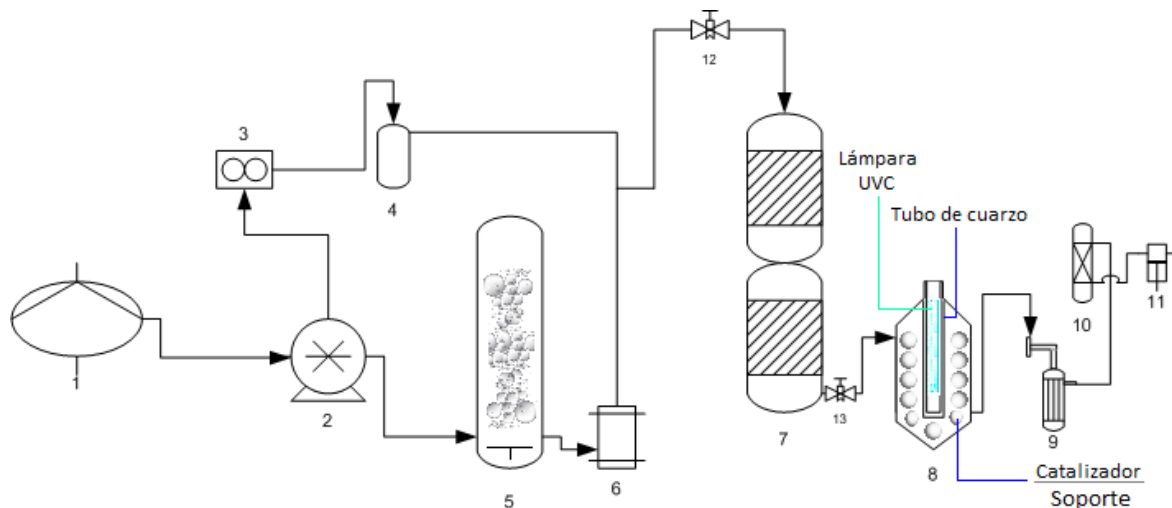


Figura 8. Diagrama de operación general para la biofiltración de vapores de acetato de etilo e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en flujo continuo; 1) Compresor, 2) Bomba de aire, 3) Medidor de flujo másico, 4) Saturador con acetato de etilo líquido, 5) Humidificador, 6) Rotámetro, 7) Biofiltro compuesto de dos módulos, 8) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en perlita o poraver, 9) Impinger AGI-30, 10) Trampa de humedad, 11) Bomba peristáltica, 12) Puerto de muestreo a la entrada del biofiltro y 13) Puerto de muestreo a la salida del biofiltro.

Descripción del biofiltro

La Figura 8 y 9 muestra el biofiltro, el cual constó de dos módulos cilíndricos de vidrio con un volumen efectivo de 1.1 L cada uno y un diámetro interno de 0.097 m con una altura de 0.45 m. Cada módulo fue empacado con 0.9 L de perlita inoculada con el consorcio de microorganismos descrito anteriormente. El biofiltro operó con un tiempo de residencia de gas de 60 segundos. El flujo estuvo regulado por un rotámetro y se estableció una carga orgánica de AE de 60 g/m³h. Los resultados de los experimentos de biofiltración fueron expresados en términos de Capacidad de Eliminación (CE) en g/m³h, Eficiencia de Remoción (ER %), Producción de CO₂ (PCO₂) en g/m³h y Porcentaje de Mineralización (M %) siguiendo las ecuaciones 1 – 8.

$$Q = \frac{V}{TRG} \dots Ecuación 1$$

$$[S] = \frac{V \cdot CV}{Q} \dots Ecuación 2$$

$$CI = \frac{Q}{V} \cdot [S_{in}] \dots Ecuación 3$$

$$CE = \frac{Q}{V} \cdot [S_{in} - S_{out}] \dots Ecuación 4$$

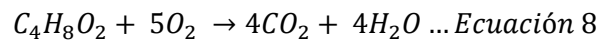
$$PCO_2 = \frac{Q}{V} \cdot [S'_{out} - S'_{in}] \dots Ecuación 5$$

$$ER (\%) = \frac{[S_{in} - S_{out}]}{S_{in}} \cdot 100 \dots Ecuación 6$$

$$M (\%) = \frac{[PCO_2 \cdot (\frac{1}{1.9982})]}{CE} \cdot 100 \dots Ecuación 7$$

Donde Q, es el flujo de aire (m³/h); V, es el volumen efectivo del reactor (m³); TRG, es el tiempo de residencia de gas (h); S_{in} y S_{out}, es la concentración de entrada y salida, respectivamente, de acetato de etilo (g/m³); S'_{in} y S'_{out}, es la concentración de entrada y salida, respectivamente, de dióxido de carbono (g/m³).

Para determinar la mineralización práctica efectuada en el biofiltro se calculó la mineralización teórica con la ecuación 8.



La ecuación 8 es la reacción estequiométrica de una mol de acetato de etilo que se consume para formar 4 moles de CO₂. Por lo anterior se sabe que se requieren 88.1 g de Acetato de etilo (C₄H₈O₂) para producir 176.04 g de dióxido de carbono (CO₂), por lo tanto, se produce 1.9982 gCO₂/g C₄H₈O₂.

En la parte inferior del biofiltro se recuperan los lixiviados y por la parte superior del mismo se agregaron 200 mL de medio mineral (sales y elementos traza) dos veces por semana durante los primeros 40 días de operación y después a una vez por semana a partir del día 41 de operación del biofiltro.

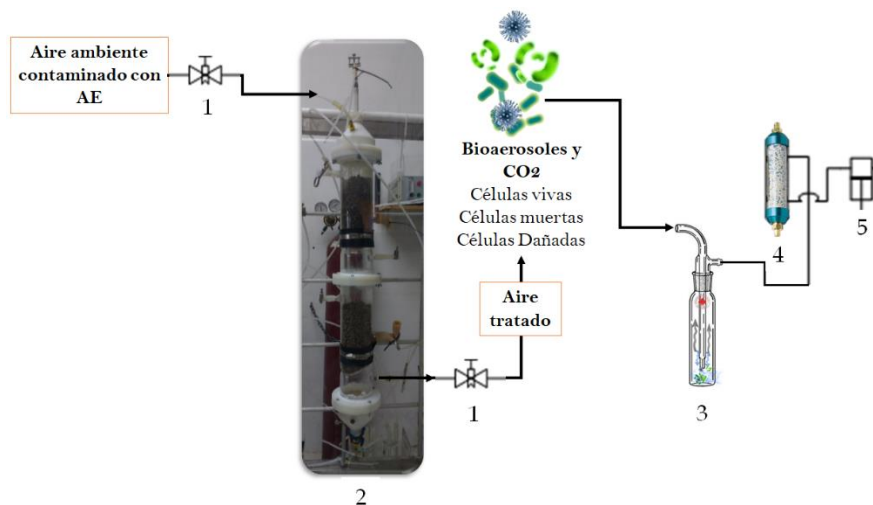


Figura 9. Proceso de biofiltración de acetato de etilo y emisión y muestreo de bioaerosoles provenientes del biofiltro (Capítulo IV); 1) Puertos de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Impactador de vidrio (Glass Impinger AGI – 30), 4) Trampa de humedad y 5) Bomba de vacío

2.1 Síntesis y caracterización de catalizadores

El catalizador ZnO se sintetizó por el método de sol-gel. Se prepararon dos soluciones, una de 0.2 M (S1) con el precursor metálico $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ y otra solución de 0.92 M (S2) de ácido oxálico ($H_2C_2O_4$), ambas soluciones diluidas en etanol (agente dispersante). Ambas soluciones se mantuvieron a $60^\circ C$ durante 1 hora de agitación constante. Después, S1 y S2 se mezclaron a $80^\circ C$ con agitación constante y por 2 horas hasta la formación del gel.

Una vez que el gel se formó, 20 g de perlita o poraver limpio, seco y estéril fue agregado a la mezcla del gel, por lo que la inmovilización del catalizador fue realizada por el método de recubrimiento por inmersión. Posteriormente, el soporte impregnado con el gel fue sometida a $80^\circ C$ durante 20 horas en una estufa para eliminar el etanol y finalmente fue calcinada a $550^\circ C$ durante 2 horas para completar la síntesis de ZnO. Finalmente, el soporte impregnado se lavó con agua desionizada y se secó a $100^\circ C$ para posteriormente hacer la caracterización gravimétrica [87].

Se usó TiO_2 comercial (Sigma-Aldrich 718467, CAS:13463-67-7). La impregnación del TiO_2 sobre el soporte se realizó siguiendo la metodología reportada por Saucedo y colaboradores [87], [88]. Finalmente, el soporte impregnado se lavó con agua desionizada y se secó a $100^\circ C$ para posteriormente hacer la caracterización gravimétrica.

2.2 Caracterización de los fotocatalizadores

a) Microscopía electrónica de barrido

La morfología de los catalizadores fue examinada por microscopía electrónica de barrido utilizando el equipo FEI HELIOS NANOLAB 600 con un detector de

electrones retrodispersados (BSD). El equipo FEI QUANTA 250 con BSD se usó para observar la distribución de los catalizadores sobre el soporte.

b) Fisisorción con Nitrógeno

Se determinó el área superficial específica (A_{BET}), la estructura porosa de los catalizadores y la isoterma de adsorción-desorción así como los lazos de histéresis [89]. Los datos fueron obtenidos en el equipo Micrometrics ASAP 2020, donde, mediante el método BET (Brauner-Emmet-Teller), se calculó el área específica de los materiales sólidos.

c) Difracción de Rayos X

Para determinar las fases cristalinas y los tamaños de cristal de los semiconductores se utilizó el difractómetro de rayos X Bruker Advance 8 a una longitud de onda de la radiación incidente ($Cu K\alpha$) de 1.540 Å. El barrido se hizo de 10-80 2θ con un tamaño de paso de 0.04. El manejo de datos consistió en comparar los planos cristalográficos con la base de datos del Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS). El tamaño promedio del cristal fue calculado aplicando la fórmula de Debye-Scherrer (Ecuación 9).

$$L = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta} \dots \text{Ecuación 9}$$

Donde L es el tamaño de cristal (nm), K es el factor de forma (0.89), λ es la longitud de onda de los rayos X (nm), β es la mitad del pico máximo en radianes, y θ es el ángulo de difracción de este pico.

e) Espectroscopía RAMAN

Se utilizó el Espectrómetro InVía MICRORAMAN: RENISHAW para obtener los modos vibracionales de los catalizadores dentro del intervalo de 10 a 1500 cm^{-1} [90].

f) Análisis gravimétricos

Los gránulos de soporte impregnados con los catalizadores fueron caracterizados por análisis gravimétricos para calcular el Grado de Impregnación ($GI = g_{\text{catalizador}}/g_{\text{perlita}}$), la densidad aparente para estimar el volumen ocupado por el soporte impregnado en el fotorreactor y la Capacidad De Retención de Agua (CRA) del soporte impregnado [31].

Para los análisis se usó el soporte limpio, seco y estéril. Se determinó su densidad aparente por medio del volumen ocupado de los catalizadores por cada gramo de los mismos. Lo anterior se realizó por triplicado. La densidad aparente de los soportes impregnados se determinó de la misma forma en que se calculó para el soporte sin catalizador.

Además, se determinó la diferencia de peso antes y después de la impregnación, con lo cual se calculó el grado de impregnación para cada catalizador.

La capacidad de retención de agua se midió pesando 1 g del soporte impregnado y seco, el cual se dejó sumergido en agua destilada por doce horas, después de este tiempo se eliminó el agua que no fue absorbida y se pesó el soporte húmedo. Posteriormente se procedió al secado del material a 105°C durante 3 horas para registrar su peso seco.

Con la densidad aparente del soporte impregnado, así como con el GI se calculó el volumen requerido del soporte para tener 1 g de catalizador en los sistemas fotocatalíticos.

2.3 Descripción del fotorreactor y parámetros operacionales

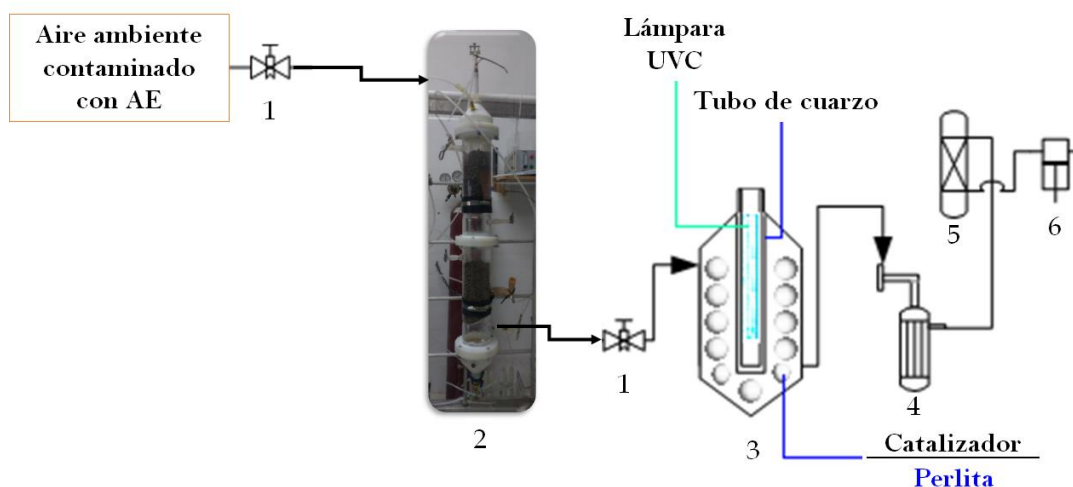


Figura 10. Proceso de biofiltración e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en continuo con los catalizadores impregnados en Perlita (Capítulo V); 1) Puerto de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en perlita, 4) Impinger AGI-30, 5) Trampa de humedad, 6) Bomba peristáltica

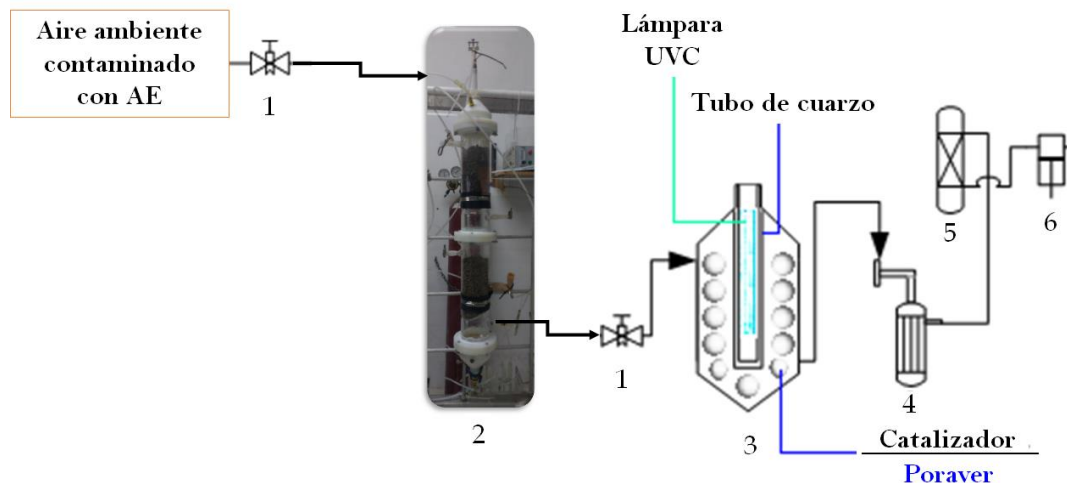


Figura 11. Proceso de biofiltración e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en continuo con los catalizadores impregnados en Poraver (Capítulo VI); 1) Puerto de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en poraver, 4) Impinger AGI-30, 5) Trampa de humedad, 6) Bomba peristáltica

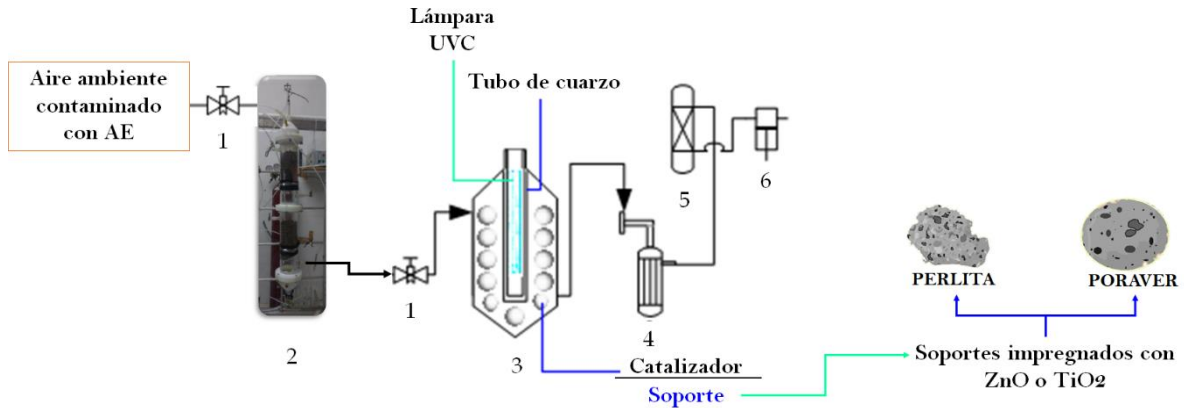


Figura 12. Proceso de biofiltración e inactivación fotocatalítica de bioaerosoles en continuo con los catalizadores impregnados en Perlita o Poraver (Capítulo VII); 1) Puerto de muestreo, 2) Biofiltro, 3) Fotorreactor empacado con catalizador impregnado en soporte, 4) Impinger AGI-30, 5) Trampa de humedad, 6) Bomba peristáltica

2.4 Sistema fotolítico, sistemas de adsorción y fotocatalíticos

El fotorreactor consistió de un reactor de vidrio Pyrex anular de flujo pistón con un volumen efectivo de 210 mL. El fotorreactor contenía un tubo anular de cuarzo con diámetro interno de 1.5 cm que contenía una lámpara UV de mercurio de baja presión para emitir longitudes de onda de 254 nm (Lámpara pen-ray 11SC1 254nm 2.12 UVP 90-0012-01). El esquema del proceso donde se utilizó el fotorreactor descrito se muestra en las Figuras 10, 11 y 12.

Además, el fotorreactor operó con un tiempo de residencia de gas de 5.72 segundos. La salida gaseosa del biofiltro fue conectada a la entrada del fotorreactor para desarrollar los procesos de control de fotólisis y adsorción y el proceso fotocatalítico. El control de fotólisis se desarrolló en el fotorreactor vacío y provisto con la lámpara UV a 254 nm únicamente. Se corrió también un experimento control de adsorción, el cual se llevó a cabo con el volumen necesario de perlita o poraver impregnado para tener 1 g de catalizador en el sistema [87]. Este sistema fue muestreado durante 20 horas para determinar el tiempo de saturación del soporte, es decir el punto en el que la concentración de entrada era igual a la salida de bioaerosoles.

El fotorreactor fue empacado con 49.61 mL de perlita impregnada con ZnO y con 19.34 mL de perlita impregnada con TiO₂ (Figura 10 y 12). Así mismo, para los procesos desarrollados con poraver se emplearon 123.3 mL g de ZnO y 150.8 mL g de TiO₂ (Figura 11 y 12). Los procesos se desarrollaron en flujo continuo con la lámpara UV a 254 nm para cada catalizador impregnado en perlita o poraver. Los sistemas fueron evaluados por 96 horas. En cada sistema se tomaron 18 muestras en total a la salida del fotorreactor. En las primeras 12 horas se tomaron dos muestras de la salida del fotorreactor cada hora. A partir de las 12 horas se tomó una muestra cada 12 horas hasta completar las 96 h de evaluación.

2.5 Muestreo y caracterización de bioaerosoles

El muestreo de bioaerosoles fue desarrollado por medio del método de impactación en medio líquido. Se usó un impactador de vidrio, Impinger AGI-30 (Ace Glass Inc., Vineland, USA), de acuerdo a la metodología estándar establecida por la NIOSH [40]. Los bioaerosoles fueron muestreados a la salida del biofiltro con una velocidad de flujo de 12.5 L/min durante 30 minutos. El flujo de entrada del impactador consistió del flujo de salida del biofiltro (2.2 L/min) y una corriente de aire ambiente a 10.3 L/min filtrada con un filtro de fibra de vidrio hidrofílico con un poro de 1.0 μm (Merck Millipore). Los impactadores estériles fueron llenados con 20 mL de una solución salina de fosfatos a un pH de 7.2 (PBS) filtrada y esterilizada antes del muestreo. El esquema del muestreo se muestra en la Figura 13.

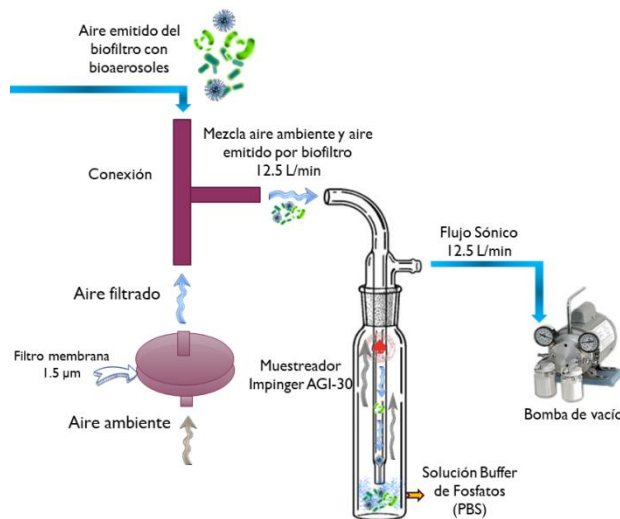


Figura 13. Material y componentes necesarios para el muestreo de bioaerosoles por método de impingement

Se usó el citómetro de flujo BD FACSCalibur 342975 para la cuantificación y caracterización de las muestras de bioaerosoles. El citómetro fue equipado con dos láseres, el primero fue un láser azul de argón-ión de 15 mW y 488 nm y un segundo láser óptico rojo de diodo a 635 nm y con un mezclador de haz como se muestra en la Figura 14. Una celda de cuarzo con el flujo celular en el citómetro fue alineada con el láser y acoplada a la colección óptica para asegurar que los láseres puedan enfocarse con precisión en la corriente de la muestra. Así, la señal más grande y la máxima cantidad de luz emitida se logró colectar [91].

Además de la dispersión de luz frontal (tamaño) y de dispersión lateral (granularidad), se adquirieron las señales fluorescentes verdes (530 nm-FL1), fluorescentes amarillas (585 nm-FL2) y fluorescentes rojas (670 nm-FL3) mostradas en la Figura 14. Los detectores del citómetro de flujo fueron configurados con una amplificación logarítmica y los voltajes de ganancia establecidos fueron E00 para el detector de tamaño, 350 para el detector de dispersión lateral, 600 para el detector de fluorescencia verde, 550 para el detector de fluorescencia amarilla y 650 para el detector de fluorescencia roja (ver Anexo 3).

Para la medición de la viabilidad de células un volumen de 500 μL de cada muestra fue teñido con 5 μL de Naranja de Tiazol [42 $\mu\text{mol/L}$] y 5 μL de Yoduro de Propidio [4.3 mmol/L]. Después de 5 minutos de tinción, 25 μL de una suspensión de perlas fluorescentes de conteo fue añadida, esta suspensión fue previamente sonicada por 20 minutos. Las muestras fueron medidas inmediatamente después de la tinción y se leyeron a una velocidad de flujo medio para alcanzar 300-600 conteos por segundo y 10,000 eventos (células objetivo) fueron cuantificadas para la adquisición de la base de datos. Todas las muestras se leyeron por duplicado. Se usó el software *Cell Quest Pro* para el análisis de los datos.

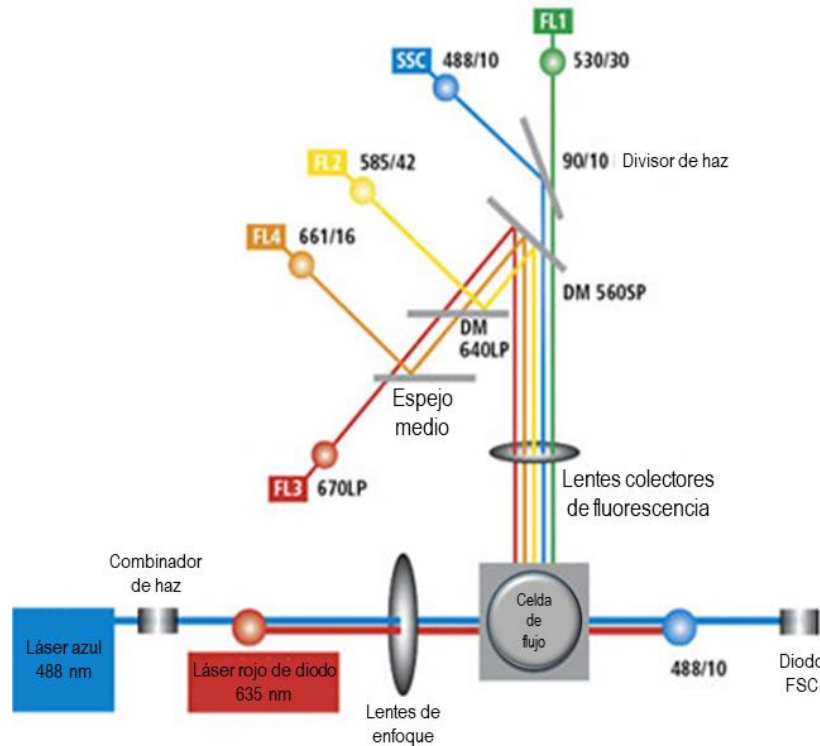


Figura 14. Sistema óptico del citómetro de flujo BDCalibur [91].

La cuantificación de esporas fúngicas se realizó mediante microscopia de epifluorescencia debido a que el citómetro de flujo empleado no cuenta con el láser violeta cercano al UVA (405 – 375 nm) [92]. La tinción de esporas fúngicas y esporas se hizo con Calcofluor-White (Sigma-Aldrich, 18,909-100ML-F). Se añadieron 10 μL de calcofluor y 10 μL de KOH al 10% (P/V) a una muestra de 50 μL de bioaerosoles manteniendo un tiempo de reacción de 1 min antes de observar al microscopio. Se colocaron 10 μL de muestra de bioaerosol teñida en una cámara de conteo (Bran-Blau Brand, Germany). Las muestras se examinaron con una magnificación de 40x en un microscopio de epifluorescencia (Axon, Imager M2. Zeiss, Inc.) provisto con una lámpara de mercurio monocromática (AxioCam MRm HBO-120 W Hg) y equipado con el filtro FL Filter Set 49 DAPI-EX G365S con una emisión de longitud de onda de 465 nm. Para la captura de micrografías se usó la cámara digital del equipo y para procesar las imágenes el software de adquisición ZEN 2012.

Aproximadamente 35 imágenes por muestra fueron procesadas y analizadas por duplicado (ver Anexo 4). Para los resultados de bioaerosoles fúngicos (esporas fúngicas) no se realizó la composición de las muestras en base a viabilidad, solo se contabilizaron los microorganismos totales en las muestras por microscopia de epifluorescencia y de acuerdo al método reportado por Esquivel-Gonzalez et al., (2017) [3].

Los resultados obtenidos del citómetro de flujo y de las imágenes capturadas con el microscopio de epifluorescencia se expresan en células/m³·aire. Los datos se procesaron con las ecuaciones 10 y 11.

$$\frac{Células_{totales}}{\mu L} = \frac{(\sum Células) * (25 \mu L * X)}{(Volumen Total_{muestra})(500 \mu L)} \dots Ecuación 10$$

$$\sum Células_{Totales} = \#Células_{vivas} + \#Células_{muertas} + \#Células_{dañadas} \dots Ecuación 11$$

$$\frac{Células}{m^3 \text{ de aire}} = \frac{Células_{totales}}{\mu L} \left| \frac{Volumen Total_{muestra} \mu L}{2.2 L} \right| \left| \frac{1 \text{ min}}{30 \text{ min}} \right| \left| \frac{1000 L}{1 m^3} \right| \dots Ecuación 12$$

Donde “X” corresponde al número de perlas por 1 μL de solución de perlas fluorescentes. En este estudio se usaron dos lotes de soluciones y los valores de X correspondieron a 956 y 940. Además, los datos en la ecuación 12 corresponden a un flujo 2.2 L y tiempo de residencia de gas de 60 segundos del biofiltro y fotorreactor de 210 mL y 5.72 segundos, respectivamente.

2.6 Inactivación de bioaerosoles sobre el soporte/catalizador

Se extrajeron de 3 a 5 gránulos de soporte de la parte superior, media e inferior del empaque del fotorreactor para evaluar el mecanismo de inactivación del proceso fotocatalítico. Se usaron muestras de soporte sin impregnación de catalizador, del proceso de control de adsorción y al final de las 96 h del proceso fotocatalítico. Los gránulos de cada sección fueron colocados en una solución de glutaraldehído (GTH) al 2.5 % (V/V) diluido en PBS estéril. Después de 2 horas las piezas fueron deshidratadas con soluciones de etanol:agua al 30, 50, 70, 90 y 100% por 15 minutos entre cada cambio, excepto para el último cambio que fue hecho por 3 veces en total. Posteriormente, las muestras fueron secadas con el secador de punto crítico Tousimis Samdri-PVT-3D dryer. Finalmente, las muestras fueron observadas en un MEB FEI QUANTA 250 con BSD [93].

Con la finalidad de cuantificar la cantidad de células totales retenidas en el soporte empleado como empaque para el fotorreactor durante el proceso fotocatalítico, se homogenizó el soporte resultante y se tomó un 1 g de soporte para extraer los bioaerosoles depositados, se usó solución de PBS y sonicación por 30 min.

Transcurrido este tiempo se tomó el soporte sólido y se colocó en otro tubo de centrifuga de 50 ml estéril para repetir el procedimiento previamente descrito. Lo anterior se hizo durante 3 veces más con la finalidad de asegurar el desprendimiento total de las células retenidas en el soporte. Se usó el citómetro de flujo con el mismo procedimiento de tinción y parámetros de operación del equipo descrito anteriormente para analizar las muestras de bioaerosoles retenidos.

2.7 Análisis de gases

La concentración de AE y CO₂ a la entrada y salida del biofiltro se determinó por medio de un Cromatógrafo de Gases (GC-Termo Scientific TRACE 1300) equipado con una columna de polaridad intermedia BD-624, un detector de ionización de flama (FID) y un detector de conductividad térmica (TCD). Se usó nitrógeno como gas acarreador a 3.5 mL/min y con una presión de operación de 28.4 kPa. Las temperaturas de operación para el FID fueron 180, 100 y 180°C para el inyector, la columna y el detector, respectivamente. Las temperaturas de operación para el TCD fueron 180, 100 y 250°C para el inyector, la columna y el detector, respectivamente.

2.8 Análisis de biomasa en el biofiltro

Se tomó muestra de los dos módulos del biofiltro cada mes para determinar sólidos volátiles y sólidos fijos por métodos estándar reportados [94].

2.9 Análisis de pH y COT de lixiviados provenientes del biofiltro

Se analizó el pH con el potenciómetro y se midió el volumen de lixiviados con probeta. Posteriormente, las muestras de lixiviados se filtraron con membrana de 0.2 µm y se prepararon diluciones 1:20 por duplicado para determinar la cantidad de Carbono Orgánico Total (COT) con el analizador SHIMADZU (TOC-V_{CSN}) [3], [95].

A continuación, en la Figura 15, se muestra el diagrama de bloques experimental que resume las técnicas analíticas que se usaron para la cuantificación y caracterización de bioaerosoles y parámetros operacionales del biofiltro así como las etapas en el desarrollo de proyecto.

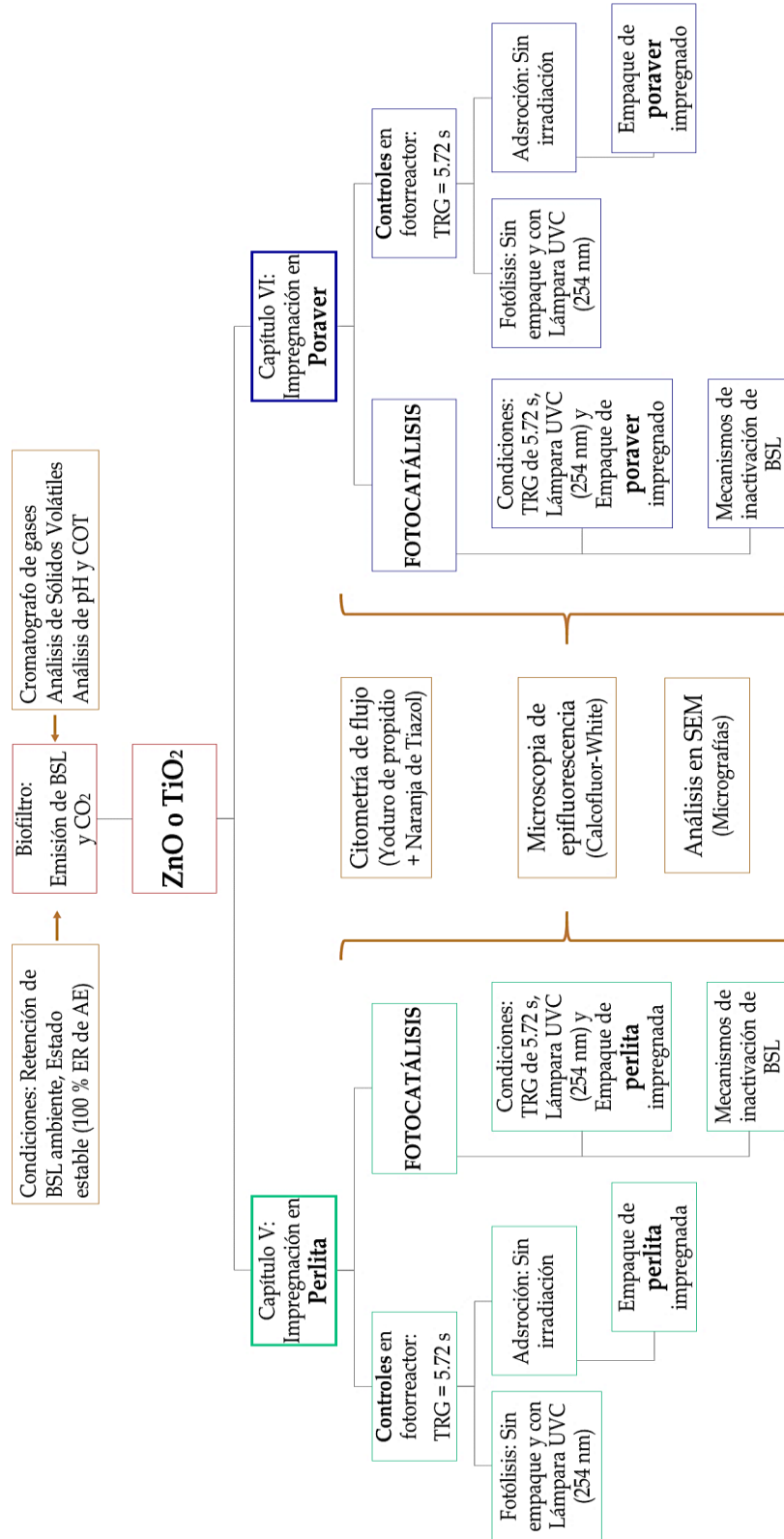


Figura 15. Diagrama de bloques del sistema experimental.

3. REFERENCIAS

- [3] S. Esquivel-Gonzalez, A. Aizpuru, A. Patrón-Soberano, and S. Arriaga, "Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 123, pp. 78–86, 2017.
- [31] J. O. Saucedo and S. Arriaga, "Estudio de la degradación de vapores de n-Hexeno mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocatalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2015.
- [40] NIOSH, "Sampling and Characterization of Bioaerosols," *NIOSH Man. Anal. Methods*, no. 100, pp. 4–7, 2005.
- [86] I. Covarrubias-García, A. Aizpuru, and S. Arriaga, "Effect of the continuous addition of ozone on biomass clogging control in a biofilter treating ethyl acetate vapors," *Sci. Total Environ.*, vol. 584–585, pp. 469–475, 2017.
- [87] J. O. Saucedo-Lucero and S. Arriaga, "Photocatalytic oxidation process used as a pretreatment to improve hexane vapors biofiltration," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 90, no. 5, pp. 907–914, 2015.
- [88] S. N. Hosseini, S. M. Borghei, M. Vossoughi, and N. Taghavinia, "Immobilization of TiO₂ on perlite granules for photocatalytic degradation of phenol," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 74, no. 1–2, pp. 53–62, 2007.
- [89] K. S. W. Sing *et al.*, "International Union of Pure and Applied Chemistry, Including Catalysis-Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity," *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 603–619, 1985.
- [90] M. Hinojosa, S. Arriaga, and V. Rodríguez, "Estudio de un sistema híbrido de degradación de etilbenceno: oxidación avanzada UV / TiO acoplada a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación científica y Tecnológica, A.C., 2011.
- [91] BD Biosciences, "BD FACSCalibur Flow Cytometry System Fluidics: Technical Specifications," 2010.
- [92] L. M. Vanhee, H. J. Nelis, and T. Coenye, "Rapid detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* in environmental air samples using solid-phase cytometry," *Env. Sci Technol*, vol. 43, no. 9, pp. 3233–3239, 2009.
- [93] T. García, S. Arriaga, F. Alatríste, and A. Aizpuru, "Efecto de la Adición de Pulsos de Ozono Sobre la Composición de la Biopelícula Durante la Biofiltración de Formaldehído," 2012.
- [94] O. of S. and T. E. and A. D. (4303) U.S. Environmental Protection Agency, "Method 1684: Total, Fixed, and Volatile Solids in Water, Solids, and Biosolids," Pennsylvania, Washington, DC., 2001.
- [95] G. R. Christoph, J. F. Hansen, and H. W. Leung, "Subchronic Inhalation Neurotoxicity Studies of Ethyl Acetate in Rats," *Neurotoxicology*, vol. 24, no. 6, pp. 861–874, 2003.
- [119] BD Biosciences, "Live and Dead Cell Discrimination BD™ Cell Viability Kit," 2015.

- [120] BD Biosciences, R. Alsharif, M. Tapia, W. Godfrey, J. Wannlund, and M. Nagar, "Bacterial Disinfectant Efficacy Using Flow Cytometry," 2001.
- [121] BD Biosciences, "BBL™ Calcofluor White Reagent Droppers," 2016.
- [122] Universidad de Vigo. Facultad de Biología, "Técnicas Hitológicas. 2- Fijación. Fijadores. Atlas de Histología Vegetal y Animal," *Atlas de Histología Vegetal y Animal*, 2018. [Online]. Available: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/2-fijadores.php>. [Accessed: 22-Jun-2018].

1. INTRODUCCIÓN

El acetato de etilo es un solvente orgánico volátil comercial ampliamente usado en la industria de pinturas, barnices y plástico [29]. Las exposiciones agudas a sus vapores pueden inducir a una narcosis temporal en animales, causar irritación respiratoria y ocular, así como la pérdida de peso y efectos sedativos cuando las exposiciones son crónicas [29], [95]. Además, el acetato de etilo es explosivo y tiene un olor característico que contribuye a la degradación de la calidad de aire de interiores [29].

Por lo anterior se han desarrollado tecnologías fisicoquímicas y biológicas para el tratamiento de corrientes contaminadas con compuestos orgánico volátiles (COVs) y entre dichas tecnologías destaca la biofiltración. La biofiltración es un proceso biológico ampliamente usado para el control y eliminación de compuestos volátiles con altas eficiencias de eliminación de los contaminantes donde en un reactor se da la conversión de un compuesto químico en fase gaseosa a productos comunes de la degradación biológica como CO₂, agua y biomasa [28], [29], [86], [96], [97]. En el reactor se hace pasar una corriente de gas contaminado a través de un medio poroso donde crecen microorganismos y ocurre la degradación del contaminante [28].

Así, se han desarrollado diferentes estudios para tratar el acetato de etilo en los que se ha demostrado que el contaminante es un compuesto de fácil degradación debido a que es hidrofílico y no presenta una limitante en la transferencia de masa a través de la biopelícula [98]. Además, se ha encontrado que el acetato de etilo es altamente biodegradable con respecto a otros contaminantes, por lo que los microorganismos prefieren consumirlo como sustrato y beneficia el crecimiento de la biopelícula [96], [98], [99] y por tanto a la estabilidad en la operación de un biofiltro que trate dicho contaminante.

Por lo anterior, se han desarrollado estudios que han tratado acetato de etilo con carga continua [86], [96], [100] e interrumpida [100] y con altas cargas tratadas con un 100% de degradación desde 200 (g/m³h) [86], [99] hasta 450 (g/m³h) [98], sin embargo se ha comprobado que la degradación de acetato de etilo produce subproductos gaseosos como etanol, ácido acético y acetaldehído que se solubilizan en el lecho de empaque y en los lixiviados del biofiltro, lo que puede llegar a representar un problema en su tratamiento que ha sido superado recirculando la corriente de tratamiento, cambiando la frecuencia de riego o adicionando sustancias, como agua destilada, para mantener un pH estable entre 5 a 7.5 que sigue permitiendo el desarrollo de la biopelícula y una degradación de 100% del contaminante [29], [86], [96], [98], [99].

Pese a las ventajas que presenta la biofiltración para el tratamiento de contaminantes se han reportado que los biofiltros pueden actuar como medios de retención o de emisión de bioaerosoles [1], [3], [101], [102] que pueden llegar a

representar un mayor riesgo a la salud que los COVs debido a las diversas enfermedades infecciosas (gripa, influenza o tuberculosis), respiratorias (asma, rinitis, conjuntivitis o neumonías hipersensitivas), pulmonares obstructivas crónicas y cáncer [7].

Los bioaerosoles se definen como partículas suspendidas en el aire provenientes de material biológico que contiene el biofiltro [32]. Consisten de bacterias, hongos, virus, partículas de peso molecular alto, alergénicos, endotoxinas, micotoxias, peptidoglicanos, $\beta(1\rightarrow3)$ -glucanos, polen y fibras de planta [6], [33]. La mayoría de los bioaerosoles se encuentran en un tamaño respirable, es decir, de 0.003 a 200 μm , por lo anterior son contaminantes que degradan la calidad de aire de interiores.

La cantidad de bioaerosoles emitidos por los procesos biológicos depende de las condiciones de operación que se desarrollen durante el proceso de biofiltración e incluso cuando se alcanza un estado estable de biodegradación de contaminantes durante el proceso de biofiltración, la emisión de bioaerosoles se ve afectada por el porcentaje de humedad, ya que se ha demostrado que a mayor contenido de humedad en el proceso disminuye la emisión de esporas fúngicas debido a que se tiene un mejor efecto de retención de la biopelícula al soporte [1], [102]. Vergara y col. (2012) [1] reportaron que cuando el porcentaje de humedad decrece de 85% a 20% se emiten hasta 4.44 veces mayor cantidad de esporas fúngicas y que existe un patrón similar cuando la temperatura de operación es 10 grados mayor o 10 grados menor a la adecuada para los microorganismos.

El tipo de sustrato o sustratos y continuidad en la alimentación de carga juegan un papel importante en la concentración de bioaerosoles emitidos por los biofiltros. Se ha demostrado que cuando se tienen condiciones de estrés para los microorganismos, los procesos de biofiltración tienden a emitir una mayor concentración de bioaerosoles [1], [3], [31]. Otro factor importante a considerar es la disponibilidad de nutrientes esenciales para los microorganismos, como el nitrógeno, ya que cuando se tienen condiciones limitantes la emisión de bioaerosoles aumenta [1], [101]. La presencia de compuestos inhibidores como otros contaminantes con menor biodegradabilidad u ozono afectan el rendimiento del biofiltro [86], [96], [99], [100] y por ende deben afectar la concentración de bioaerosoles emitidos por los biorreactores ya que afecta directamente a la formación de las biopelículas y por consecuencia afecta la cantidad de biomasa en el proceso y al desprendimiento o retención de microorganismos en los biorreactores [1]–[3].

Por otro lado, la mayoría de los estudios enfocados a la cuantificación y caracterización de bioaerosoles se han hecho con métodos de cultivo dependiente y se han reportado valores de $60\text{--}1.38 \times 10^3$ UFC/ m^3 aire [2], 1.8×10^4 – 4.5×10^3 UFC/ m^3 de aire [1], $262\text{--}392$ UFC/ m^3 de aire [30] y 2.1×10^3 – 9.0×10^4 UFC/ m^3 de aire [31], sin embargo se sabe que los métodos de cultivo dependiente subestiman la cantidad y diversidad real de los bioaerosoles ya que solo el 10% de los

microorganismos suspendidos en el aire son cultivables [7], [33]. Lo anterior se comprueba con el estudio realizado por Esquivel y colaboradores (2017) ya que la cantidad de bioaerosoles que reporta es al menos dos a cinco ordenes de magnitud superior a la de los otros estudios realizados.

Por lo anterior, en la presente investigación se desarrolló un proceso de biofiltración para tratar vapores de acetato de etilo con una carga constante de 60 g/m³h y sin periodos de inanición con la finalidad de cuantificar y caracterizar la emisión de bioaerosoles del biofiltro operando en condiciones estables. El muestreo de bioaerosoles se realizó por medio del método de impactación en medio líquido y la caracterización y cuantificación de bioaerosoles por medio de la técnica de citometría de flujo acoplada a la tinción celular con fluorocromos para cuantificar el total de bioaerosoles, así como las células vivas, muertas y dañadas.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Desempeño del biofiltro en la degradación de acetato de etilo

El biofiltro operó durante 130 días continuos, periodo en el cual se midió la carga inicial (CI) de AE, así como su capacidad de eliminación (CE), Producción de CO₂ (PCO₂), Eficiencia de Remoción (ER%) y porcentaje de Mineralización (M%). En las Figuras 16 y 17 se muestra que la capacidad de eliminación fue igual a la carga inicial por lo que la eficiencia de remoción alcanzó un 100% en todo el periodo de operación.

Lo anterior se debe a que el AE es un éster de baja complejidad química, altamente soluble por su coeficiente de partición octanol/agua (Log K_{ow}) de 0.73 lo que permite su alta biodisponibilidad y rápido consumo por los microorganismos en el biofiltro y debido a que el AE es un compuesto hidrófilico, la transferencia del contaminante de la fase gaseosa a la fase líquida del biofiltro no es un paso limitante sino la degradación microbiana del AE [29], [103]

El alto consumo de AE provocó el aumento en la cantidad de biomasa y así el aumento de la caída de presión del biofiltro de 1 cm H₂O m⁻¹, en los primeros 15 días, a 3.8 cmH₂O m⁻¹, en el día 120 de operación [86].

La Producción de CO₂ (PCO₂) y porcentaje de mineralización (M%), mostrados en las Figuras 18 y 19, se pueden relacionar ya que se observó que durante los 130 días de operación del biofiltro el M% fue superior al 100%. Lo anterior se debe a que existe un consumo de la fuente de carbono residual del inóculo, el cual se hace evidente durante los primeros 29 días de operación ya que el M% es menor a 400%. Sin embargo, a partir del día 30 se registró un M% entre 500 a 1050. Este M% se puede atribuir a un autoconsumo de los microorganismos (decaimiento endógeno) [28], [34].

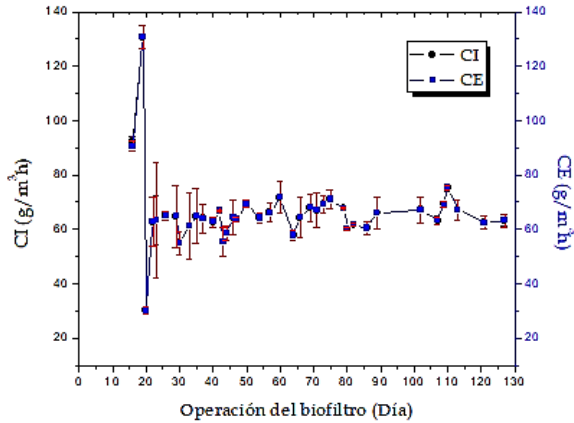


Figura 16. Capacidad de eliminación de acetato de etilo por el biofiltro

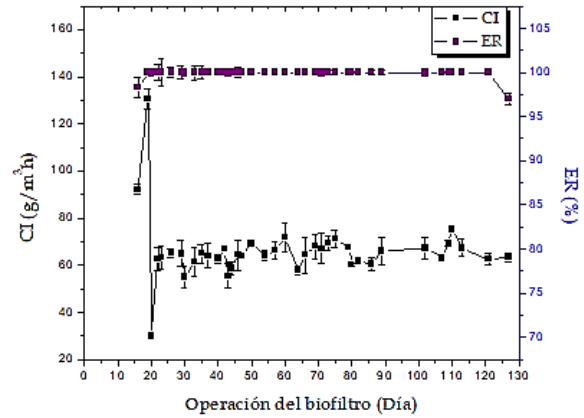


Figura 17. Eficiencia de remoción de acetato de etilo por el biofiltro

A partir del día 40 se detectó la presencia de ácaros de un tamaño promedio de 0.1 mm. Dichos organismos se observaron con un microscopio óptico cuando fueron arrastrados a los lixiviados del biofiltro (ver Figura 23). La fuente de ácaros fue la corriente de aire exterior que provenía del compresor debido a que los ácaros son microartrópodos cosmopolitas de vida libre y saprófagos o microfítófagos, es decir, se pueden alimentar de restos de materia orgánica, hongos y bacterias [104].

Por lo anterior, a partir del día 40 la estrategia de riego de medio mineral cambió, de regar el biofiltro dos veces por semana a una vez por semana. De esta manera se evitó la proliferación de dichos organismos ya que se ha reportado que los ácaros proliferan cuando el contenido de humedad en el medio aumenta [104], [105]. A pesar de cambiar la frecuencia de riego se detectó la proliferación de los ácaros, sin embargo, la degradación de AE permaneció estable, es decir, se degradó el 100% de AE. La presencia de los ácaros impactó en la producción de CO_2 ya que, aunado al decaimiento endógeno, existía la depredación de la biomasa que constituía la biopelícula y producción de sustancias orgánicas más simples provenientes de las excreciones de los ácaros [104], [105] y por tales razones a partir del día 69 se registró un M% superior a 1000% y una producción de CO_2 de hasta $1700 \text{ g/m}^3\text{h}$.

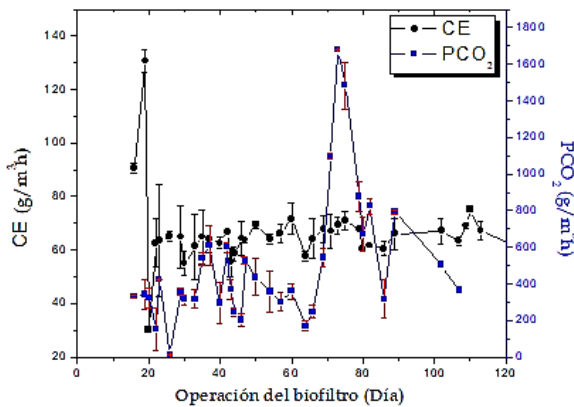


Figura 18. Producción de CO₂

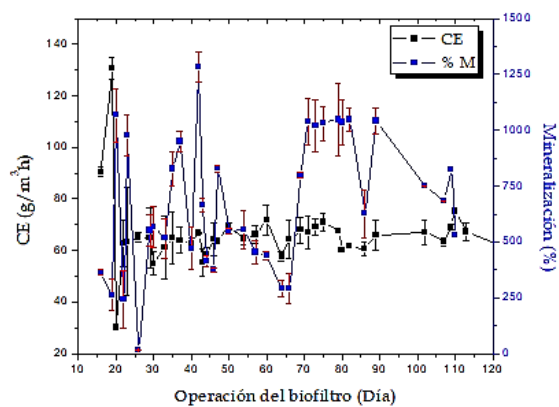
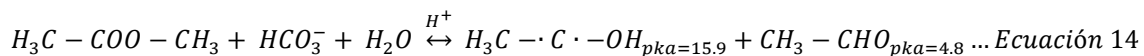
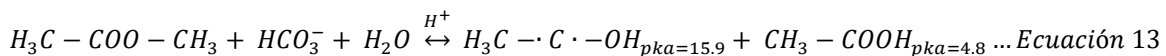


Figura 19. Porcentaje de mineralización real

2.2 Perfil de pH y contenido de COT

Al mismo tiempo se puede observar un descenso de pH en los lixiviados del biofiltro en la Figura 20. Las variaciones del pH en este estudio se deben a tres razones: la primera, a la carga inicial del acetato de etilo que aumentó de 30 a 60 g/m³h en la primera semana durante la fase de adaptación del consorcio microbiano al sistema y con ello aumentó el pH [96]; la segunda, se debe a la liberación de subproductos por la biodegradación del acetato de etilo, que acidifican el lecho y los lixiviados ya que se ha reportado que se generan subproductos gaseosos de degradación como el etanol, ácido acético y acetaldehído a concentraciones detectables en 5, 10 y 0.01 % de la carga inicial de la corriente, respectivamente [98]. Sin embargo, la acidificación del lecho no afectó el rendimiento del biofiltro. La tercera se puede atribuir al aumento de la concentración de iones bicarbonato por la producción de CO₂ que reacciona con el calcio del medio mineral y la humedad del lecho afectando así la alcalinidad y pH [106]. Las reacciones de degradación del acetato de etilo involucran reacciones de sustitución nucleofílica sobre el carbono insaturado del grupo éster en el compuesto y se muestran a continuación:



De igual manera se cuantificó el COT en las muestras de lixiviado del biofiltro como se muestra en la Figura 21 y se encontró que el valor de COT aumentó gradualmente a partir del día 41 que fue cuando se cambió la estrategia de riego del medio mineral para evitar el exceso de humedad y proliferación de los ácaros en el lecho. El cambio de estrategia de riego provocó una acumulación de metabolitos ácidos por la biodegradación del AE, por lo que el aumento de COT y la acidificación de los lixiviados está relacionada con la formación de ácido acético y acetaldehído [2], [86], [98].

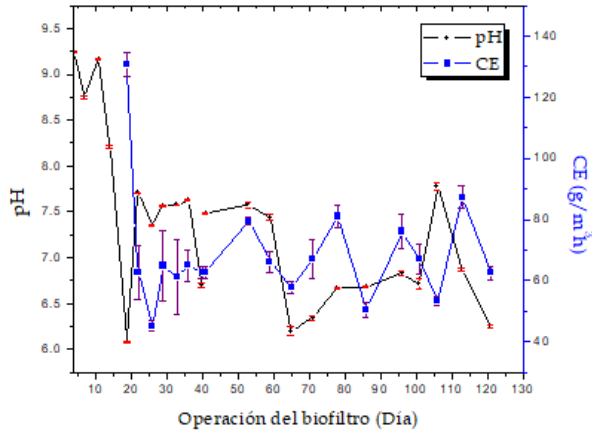


Figura 20. Variación de pH de los lixiviados del biofiltro

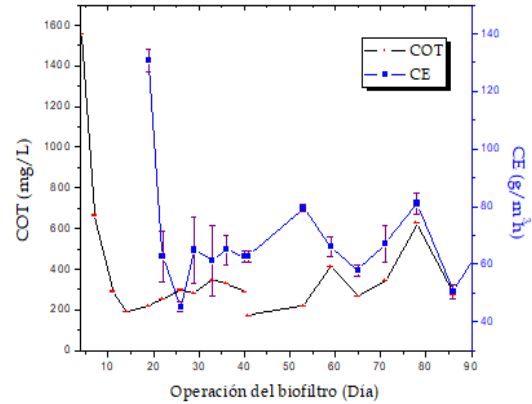


Figura 21. Monitoreo de COT en los lixiviados del biofiltro

2.3 Biomasa en el biofiltro

Se ha reportado que la mayor eficiencia de remoción de los contaminantes en biofiltros ocurre en los primeros 30 cm de lecho (40-80%) [29], [98], [100], [103], este estudio también confirma lo anterior, el módulo 1 del biofiltro registró una capacidad de eliminación de $57.21 \pm 13.33 \text{ g/m}^3\text{h}$, y fue el modulo que contenía mayor cantidad de biomasa que el módulo 2 a lo largo del periodo de operación del biofiltro (Figura 22).

En la Figura 22 se puede observar una disminución de la cantidad de biomasa a partir del día 72 al día 124 de $0.18 \text{ g}_{\text{biomasa}}/\text{g}_{\text{soporte}}$ a $0.13 \text{ g}_{\text{biomasa}}/\text{g}_{\text{soporte}}$, respectivamente. Lo anterior se puede atribuir a la presencia de los depredadores de la biopelícula mostrados en la Figura 23 (ácaros), reduciendo la velocidad de acumulación de la biomasa y reciclando nutrientes inorgánicos esenciales en el biofiltro [28]. El control de taponamiento por ácaros ya ha sido reportado y es una estrategia altamente eficiente para el control excesivo de biomasa [28], [104], [105].

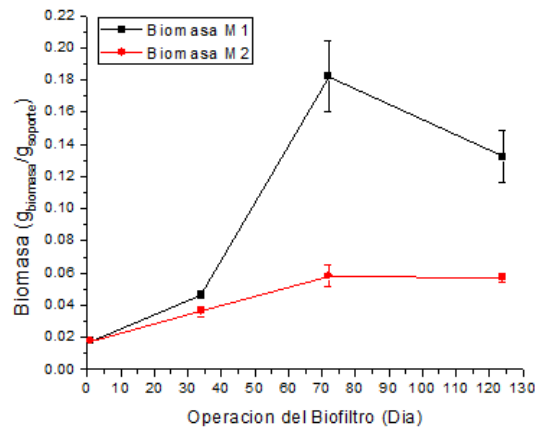


Figura 22. Porcentaje de biomasa en los módulos del biofiltro



Figura 23. Ácaros recuperados de los lixiviados del biofiltro

2.4 Emisión de bioaerosoles

En la Figura 24 se puede observar la composición de las muestras de bioaerosoles (barras) y la cantidad total de bioaerosoles emitidos durante 13 días de operación del biofiltro en estado estable (eficiencia de remoción del 100%). En la Figura 24 se muestra que se emitieron hasta 1.2×10^8 bioaerosoles totales (células/m³aire) en el día 127 y un mínimo de 5.58×10^6 bioaerosoles totales (células/m³aire) en el día 117. Además, se puede apreciar que las células vivas representan hasta un 80% de la composición de bioaerosoles emitidos por el biofiltro.

Álvares-Hornos y col. (2007) [100] realizaron la cuantificación y caracterización en las muestras de biomasa adherida al soporte. Las muestras de soporte fueron analizadas por microscopia de epifluorescencia. Se usaron tinciones con Syto 9 y Yoduro de Propidio, como fluorocromos, para definir el número de células vivas y muertas, respectivamente. Determinaron una cantidad total de 6.4×10^9 - 2.8×10^{10} de UFC/gramo_{soporte}, de las cuales, a una carga de 65 g/m³h de acetato de etilo y un EBRT de 60 segundos, demostraron que la composición de las muestras variaba con respecto a la altura del biofiltro, en la parte inferior la composición era de 60 % muertas y 40 % vivas y en la parte superior fue de 20% muertas y 80% vivas [100]. Lo anterior puede sugerir el porcentaje de células vivas y muertas que puede emitir un biofiltro y en este estudio se comprobó, durante 13 días, que la composición de los bioaerosoles totales emitidos por el biofiltro operado en estado estable corresponde hasta un 80% de células vivas, 16% de células muertas y 4% de células dañadas.

Esquivel y col. (2017) [3] reportaron la cuantificación y caracterización, por medio de la técnica de microscopia de epifluorescencia, de bioaerosoles reales emitidos por biofiltros que tratan vapores de Tolueno y empacados con tezontle y perlita. Demostraron la importancia de mantener las condiciones de operación constantes para la biofiltración, como la humedad y la carga inicial continua, para evitar diferencias significativas en la cantidad de bioaerosoles emitidos [1], [3]. Además, concluyeron que el tipo de soporte influye en la cantidad de bioaerosoles emitidos ya que la perlita es mejor medio de soporte para la formación y retención de

biopelícula que el tezontle debido a que registraron una emisión máxima de bioaerosoles por el biofiltro empacado con perlita de 7×10^7 células/m³aire y con una composición de bacterias Gram-negativas, Gram-positivas y esporas fúngicas de 40, 28 y 32 %, respectivamente y una emisión máxima de 1.3×10^8 células/m³aire (1.85 veces mayor) y con una composición de bacterias Gram-negativas, Gram-positivas y esporas fúngicas de 45, 28 y 27 %, respectivamente por el biofiltro empacado con tezontle [3].

En el presente estudio se cuantificó una emisión máxima y mínima de bioaerosoles de 1.2×10^8 células/m³aire y 5.58×10^6 células/m³aire, respectivamente. El promedio de emisión de bioaerosoles fue de $4.05 \times 10^7 \pm 2.28 \times 10^6$ células/m³aire, este valor es del mismo orden de magnitud que el reportado por Esquivel y col. (2017) para el biofiltro empacado con Perlita. Por lo anterior, se comprobó que los métodos de cultivo dependiente subvaloran la cantidad real de bioaerosoles suspendidos en el aire ya que se han reportado valores mínimos de 60 UFC/m³ aire [2][1] hasta valores máximos de 9.0×10^4 UFC/m³ de aire [31], los cuales representan, al menos, 3 órdenes de magnitud inferiores al presente estudio y el de Esquivel y col. (2017) [3].

Soret y col. (2018) [102] realizaron un estudio, con dos biofiltros operados en paralelo, para la degradación de una mezcla de hidrocarburos de petróleo a escala piloto y empacados con aserrín (virutas de madera) en el cual se demostró, por medio del uso del contador óptico de partículas totales y viables (BioTrak 9510-BD), que los biofiltros fungen como medios de remoción de partículas totales inorgánicas, orgánicas y viables (células vivas). Se registró un promedio de 3800 ± 2400 partículas viables/m³aire como concentración de entrada a los biofiltros y un promedio de emisión de los mismos de $950-970 \pm 750$ partículas viables/m³aire (80 % remoción de partículas viables/m³aire) [102].

El contador óptico opera como un equipo de cuantificación y caracterización de bioaerosoles por método de cultivo independiente, sin embargo, al comparar los valores de entrada y emisión de bioaerosoles reportados en el estudio con los reportados por Esquivel y colaboradores (2017). La concentración de células reportadas por Soret (2018) son de 7 a 4 órdenes de magnitud inferiores con respecto al presente estudio. Lo anterior se atribuye a que el contador solo identifica partículas dentro de un rango de tamaño de $0.5 - 25 \mu\text{m}$ excluyendo el resto de las células de mayor o menor tamaño. Dicho rango de cuantificación por el contador óptico corresponde al tamaño nominal de las bacterias ($0.5 - 20 \mu\text{m}$) [7], sin embargo excluye microorganismos como levaduras, esporas bacterianas y fúngicas ($25 - 200 \mu\text{m}$) [33], [40], [107].

La corriente de aire, que proviene del compresor de aire, también contiene bioaerosoles del aire de exterior. Se ha demostrado, que la concentración de bioaerosoles promedio en aire de exteriores es de 3×10^7 UFC/m³aire [3]. Por lo anterior, se puede atribuir que los valores extremos, mínimo (5.58×10^6

células/m³aire) y máximo (1.19×10^8 células/m³aire), registrados en el presente estudio fluctuaron debido a la concentración de entrada de bioaerosoles al biofiltro [1], [3], fungiendo como medio de retención cuando se registró el valor mínimo de emisión y fungiendo como fuente de bioaerosoles el día 127 con la máxima concentración de bioaerosoles registrada debido a que, previamente en el día 121, se registró uno de los valores más ácidos de pH (6.25 ± 0.01) (Figura 20).

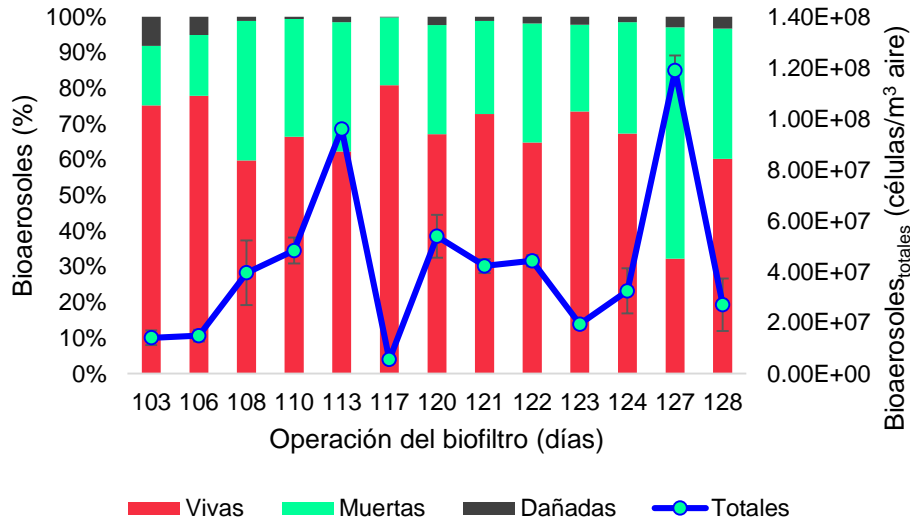


Figura 24. Cuantificación y caracterización de muestras bioaerosoles emitidos por el biofiltro

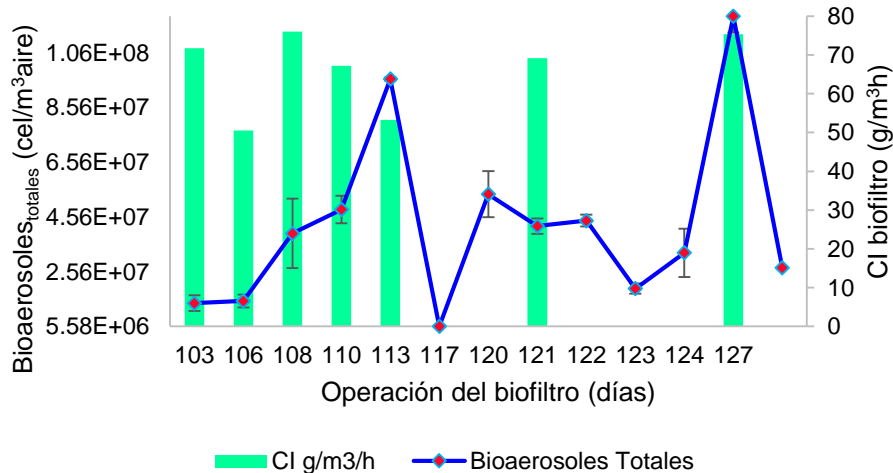


Figura 25. Emisión de bioaerosoles y capacidad de eliminación de los vapores de acetato de etilo

La emisión de bioaerosoles totales del biofiltro no es constante ya que fluctuó de 5.58×10^6 células/m³aire a 1.2×10^8 células/m³aire, como se puede observar en las Figuras 24 y 25, sin embargo, en la Figura 24 se puede observar que la composición de las muestras, en cuanto a viabilidad de células si es constante con respecto al tiempo porque se mantiene un porcentaje de 80%, 16% y 4% de células vivas, muertas y dañadas, respectivamente.

Además, en la Figura 25 se muestra que no existe una correlación directa entre la carga inicial de AE y la cantidad de bioaerosoles emitidos debido a que se degrada el 100% del AE que se suministra al biofiltro.

2.5 BALANCE DE CARBONO

El balance de carbono se realizó calculando el área bajo la curva de la Capacidad de Eliminación (g/m³h) del AE vs. La Producción de CO₂ (g/m³h) con los datos mostrados en las Figuras 18 y 19 y mediante el software Origin 8.0 y siguiendo el manejo de datos de acuerdo a Saucedo y colaboradores (2016) [31].

Los datos mostrados en la Tabla 7 revelan que la mayor cantidad de carbono consumido se transforma en CO₂ (Ecuación 15) con un 92.53 %, el 6.22 % del carbono consumido se utiliza para la generación de nuevas células (biomasa) y solo el 0.07% se transforma en subproductos. Los valores obtenidos se deben a la carga constante de AE y al estado estable alcanzado por el biofiltro con una eficiencia de remoción de AE del 100% [1], [2], [86].

De acuerdo al balance de carbono por cada mol de AE consumido se producen 0.06 moles de biomasa y 3.66 moles de CO₂. Así, el producto principal de la mineralización de AE fue el dióxido de carbono como se muestra en la ecuación 15, que es una estimación de la reacción estequiométrica que involucra la biodegradación del AE y su transformación en biomasa, dióxido de carbono y agua, principalmente [34], [98].

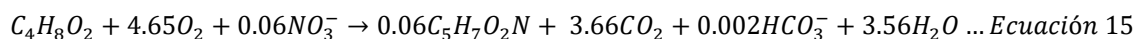


Tabla 7. Balance de carbono global

(C-AE) [g]	(C-CO ₂) [g]	Biomasa en Biofiltro [g]	C- Biomasa [%]	Mineralización [%]	COT total [g/m ³]	(C-Subp) [%]	Carbono Total [%]
210.05	194.37 ± 12.79	26.14 ± 2.11	6.22 ± 0.32	92.53 ± 3.51	0.14 ± 0.01	0.07 ± 0.02	98.82 ± 1.21

C – AE= Carbono proveniente de acetato de etilo
 C – CO₂ = Carbono en dióxido de carbono
 C – Biomasa = Carbono de la biomasa en biofiltro
 COT = Carbono Orgánico Total
 C – Subp = Carbono en subproductos

3. CONCLUSIONES

Durante los 130 días de operación del biofiltro se obtuvo una eficiencia de degradación de 100%, por lo que se alcanzó un estado estable del biofiltro bajo las condiciones de operación planteadas. El estado estable también se comprueba con el balance de masa de carbono debido a que demuestra que el 92.53% de carbono

consumido se convierte a CO₂, el 6.22% se retiene en la biomasa del sistema y el 0.07% se transforma en subproductos de biodegradación del acetato de etilo. En algunos periodos de operación se alcanzó un porcentaje de mineralización superior al 100% debido a que se consume el carbono residual del inoculo, el decaimiento endógeno de los microorganismos que conforman la biopelícula sobre el empaque del biofiltro y la depredación de los mismos por los ácaros. Además, la acidificación del medio y los lixiviados se debe a la presencia de subproductos de la biodegradación del acetato de etilo y la presencia de iones bicarbonato por la producción de CO₂, sin embargo, dicha acidificación no afectó el rendimiento del biofiltro.

Se registró un promedio de emisión de bioaerosoles de $4.05 \times 10^7 \pm 2.28 \times 10^7$ células/m³aire encontrándose que no existe una correlación directa entre la carga inicial de acetato de etilo y la cantidad de bioaerosoles totales emitidos, la emisión de bioaerosoles se puede ver afectada debido a las variaciones del pH y la concentración de los mismos que ingresan al sistema desde el aire ambiente. La composición de bioaerosoles emitidos por el biofiltro en estado estable se mantuvo constante con respecto al tiempo, emitiendo un mínimo de 60% hasta un máximo de 80% de células vivas.

4. REFERENCIAS

- [1] A. Vergara-Fernández, V. Salgado-Ísmodes, M. Pino, S. Hernández, and S. Revah, "Temperature and moisture effect on spore emission in the fungal biofiltration of hydrophobic VOCs," *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 47, no. 4, pp. 605–613, 2012.
- [2] C. Wang, J. Y. Xi, and H. Y. Hu, "Reduction of toxic products and bioaerosol emission of a combined ultraviolet-biofilter process for chlorobenzene treatment," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 59, no. 4, pp. 405–410, 2009.
- [3] S. Esquivel-Gonzalez, A. Aizpuru, A. Patrón-Soberano, and S. Arriaga, "Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 123, pp. 78–86, 2017.
- [6] J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik, "Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 47, no. 3, pp. 187–200, 2003.
- [7] B. Ghosh, H. Lal, and A. Srivastava, "Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms," *Environ. Int.*, vol. 85, pp. 254–272, 2015.
- [28] Z. Shareefdeen and A. Singh, *Biotechnology for odor and air pollution control*. Germany: Springer US, 2005.
- [29] H. Zare, G. Najafpour, M. Rahimnejad, A. Tardast, and S. Gilani, "Biofiltration of ethyl acetate by *Pseudomonas putida* immobilized on walnut shell," *Bioresour. Technol.*, vol. 123, pp. 419–423, 2012.

- [31] J. O. Saucedo and S. Arriaga, "Estudio de la degradación de vapores de n-Hexeno mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocatalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2015.
- [32] N. Goyer, J. Lavoie, L. Lazure, and G. Marchand, *Bioaerosols in the workplace: Evaluations, Control and Prevention Guide*. Montréal (Québec): IRSST - Direction des communications, 2001.
- [33] J. Mandal and H. Brandl, "Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations," *Open Environ. Biol. Monit. J.*, vol. 41, no. 1, pp. 83–96, 2011.
- [40] NIOSH, "Sampling and Characterization of Bioaerosols," *NIOSH Man. Anal. Methods*, no. 100, pp. 4–7, 2005.
- [86] I. Covarrubias-García, A. Aizpuru, and S. Arriaga, "Effect of the continuous addition of ozone on biomass clogging control in a biofilter treating ethyl acetate vapors," *Sci. Total Environ.*, vol. 584–585, pp. 469–475, 2017.
- [95] G. R. Christoph, J. F. Hansen, and H. W. Leung, "Subchronic Inhalation Neurotoxicity Studies of Ethyl Acetate in Rats," *Neurotoxicology*, vol. 24, no. 6, pp. 861–874, 2003.
- [96] S. K. Kam, J. K. Kim, and M. G. Lee, "Removal characteristics of mixed gas of ethyl acetate and 2-butanol by a biofilter packed with Jeju scoria," *Korean J. Chem. Eng.*, vol. 28, no. 4, pp. 1019–1022, 2011.
- [97] M. Koutinas, L. G. Peeva, and A. G. Livingston, "An attempt to compare the performance of bioscrubbers and biotrickling filters for degradation of ethyl acetate in gas streams," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 80, no. 11, pp. 1252–1260, 2005.
- [98] M. Deshusses, C. T. Johnson, and G. Leson, "Biofiltration of high loads of ethyl acetate in the presence of toluene," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 49, no. 8, pp. 973–979, 1999.
- [99] Y. Liu, X. Quan, Y. Zhao, S. Chen, and H. Zhao, "Removal of ternary VOCs in air streams at high loads using a compost-based biofilter," *Biochem. Eng. J.*, vol. 23, no. 1, pp. 85–95, 2005.
- [100] F. J. Álvarez-Hornos, C. Gabaldón, V. Martínez-Soria, P. Marzal, J. M. Peña-Roja, and F. Sempere, "Biofiltration of ethyl acetate under continuous and intermittent loading," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 4, pp. 327–337, 2007.
- [101] J. Saucedo, G. Quijano, and S. Arriaga, "Hexane abatement and spore emission control in a fungal biofilter-photoreactor hybrid unit," vol. 276, pp. 287–294, 2014.
- [102] R. Soret, J. L. Fanlo, L. Malhautier, P. Geiger, and S. Bayle, "Investigation of removal capacities of biofilters for airborne viable micro-organisms," *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 15, no. 3, 2018.
- [103] S. Viswanathan, R. Manivasagam, and R. Natarajan, "Biofiltration kinetics of ethyl acetate and xylene using sugarcane bagasse based biofilter," *Chem. Eng. Res. Bull.*, vol. 14, no. 1, pp. 51–57, 2010.
- [104] L. S. Subías, "Listado sistemático, sinonímico y biogeográfico de los ácaros oribátidos (Acariformes, Oribatida) del mundo (1758-2002)," *Graellsia*, vol. 60, pp. 3–

305, 2004.

- [105] P. Le Cloirec, Y. Andrès, G. Claire, and P. Pré, *Biotechnology for Odor and Air Pollution Control*. Springer US, 2005.
- [106] R. D. Letterman, *Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies*, vol. 331. 1999.
- [107] S. Agarwal, P. Mandal, and A. Srivastava, "Quantification and Characterization of Size-segregated Bioaerosols at Municipal Solid Waste Dumping Site in Delhi," *Procedia Environ. Sci.*, vol. 35, pp. 400–407, 2016.
- [108] K. Yang, L. Li, W. Ding, and S. Xue, "A full-scale thermophilic biofilter in the treatment of sludge drying exhaust: performance, microbial characteristics and bioaerosol emission," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 0, no. December 2017, 2018.
- [109] M. Schlegelmilch, T. Herold, J. Streese, A. Hensel, and R. Stegmann, "The potential to reduce emissions of airborne microorganisms by means of biological waste gas treatment systems," *Waste Manag.*, vol. 25, no. 9, pp. 955–964, 2005.

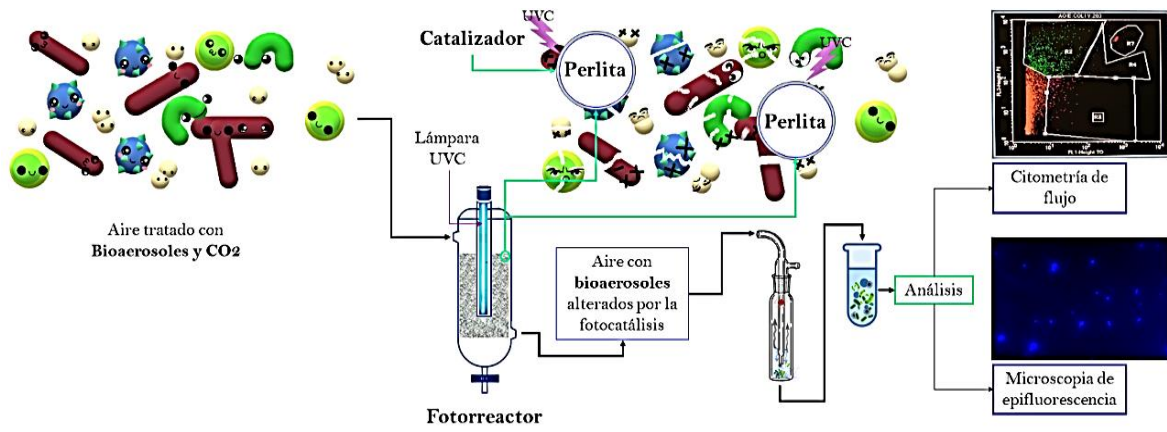
CAPITULO V: INACTIVACIÓN DE BIOAEROSOLES EN FLUJO CONTINUO CON ZnO Y TiO₂ IMPREGNADOS EN GRANULOS DE PERLITA

RESUMEN

Los bioaerosoles son contaminantes clave del aire de interior que pueden provocar diferentes enfermedades infecciosas, respiratorias y crónico degenerativas, como el cáncer, además, se sabe que una de las principales fuentes de bioaerosoles son los procesos biológicos para el tratamiento de corrientes de aire contaminadas. Por lo anterior, se desarrolló un proceso de inactivación fotocatalítica con flujo continuo de bioaerosoles reales emitidos por un biofiltro que trató vapores de acetato de etilo. Un fotorreactor anular de 210 mL operó con un tiempo de residencia de gas de 5.72 segundos. El fotorreactor fue empacado con perlita, previamente impregnada con los catalizadores ZnO o TiO₂ y se colocó una lámpara-UV de 254 nm en el tubo anular de cuarzo del fotorreactor para fotoexcitar los catalizadores. Los bioaerosoles fueron muestreados a la entrada y salida del fotorreactor por medio de un impinger AGI-30 y los bioaerosoles fueron cuantificados y caracterizados por medio de la técnica de citometría de flujo usando fluorocromos para determinar el número de células vivas, muertas y dañadas en las muestras.

Los sistemas fotocatalíticos fueron conectados a la salida del biofiltro, desempeñándose como un proceso de post-tratamiento de bioaerosoles. Los resultados mostraron que el sistema fotocatalítico más eficiente fue el de ZnO/Perlita con un 68-72% de inactivación de bioaerosoles, manteniendo dicho porcentaje de inactivación durante 7.5 horas en comparación con el sistema fotocatalítico compuesto de TiO₂/Perlita que tuvo un porcentaje de inactivación de bioaerosoles máximo de 40% durante 1 hora. También se determinó el tiempo de vida media para ZnO y TiO₂, los cuales fueron de 60 horas y 1 hora respectivamente. También se determinó que los bioaerosoles emitidos por el biofiltro están compuestos de 81 – 97 % de bacterias y levaduras y de 3 – 19 % de esporas fúngicas. El sistema ZnO/Perlita logró disminuir la concentración de esporas fúngicas en un 63.08 ± 13.63 % en las primeras 5 horas de evaluación del sistema mientras que en el sistema TiO₂/Perlita se registró una disminución de hasta 32.40 ± 21.33 % en las primeras 2.5 horas.

Palabras clave: Biofiltración, emisión de bioaerosoles, fotocatalisis en flujo continuo, citometría de flujo, microscopía de epifluorescencia.



Resumen gráfico del capítulo V

1. INTRODUCCIÓN

Los procesos biológicos como la biofiltración, biorreactores con membranas y biolavadores han sido desarrollados para tratar compuestos orgánicos volátiles, H₂S, NH₃, NO_x, y otros gases, estos procesos son altamente eficientes con valores arriba del 80% de la carga inicial [105]. Sin embargo, se ha reportado que dichos procesos biológicos emiten de 60 a 10⁵ UFC/m³ de bioaerosoles alterando así la calidad del aire [1], [2], [31], [108].

Los bioaerosoles se definen como partículas suspendidas en el aire provenientes de material biológico [32]. Consisten de bacterias, hongos, virus, partículas de peso molecular alto, alergénicos, endotoxinas, micotoxinas, peptidoglicanos, β(1-3)-glucanos, polen y fibras de planta [6], [33]. La mayoría de los bioaerosoles se encuentran en un tamaño respirable, es decir, tienen un diámetro aerodinámico entre 0.5 y 200 μm [33]. Los bioaerosoles pueden causar diversas afecciones a la salud como enfermedades infecciosas (gripa, influenza y tuberculosis), enfermedades respiratorias (asma, rinitis, conjuntivitis, neumonías) y cáncer [6], [38], [56].

La Organización Mundial de la Salud (WHO) ha establecido como Valor Límite de Exposición (ELV) de bioaerosoles en aire de interiores de 300 UFC/m³. Aunque, se han reportado concentraciones de bacterias filamentosas, bacterias entéricas y esporas del orden de 10² – 10⁴ UFC/m³ y 100 esporas/m³, respectivamente [7], [32].

El potencial de los sistemas de biofiltración para el control de bioaerosoles o partículas suspendidas en aire ha sido documentado [108], [109]. Sin embargo, los estudios reportados se han desarrollado con métodos de cultivo dependiente, así como la mayoría de los estudios de bioaerosoles en aire de interior y se sabe que dichos métodos subestiman la concentración real de bioaerosoles ya que solo el 10% de los microorganismos suspendidos en el aire son cultivables. Además, los métodos están limitados por las condiciones ambientales y medios de cultivo específicos [1]–[3].

Por lo anterior, existen métodos de cultivo independiente como la citometría de flujo que representa una alternativa a los métodos de cultivo dependiente ya que cuantifica el total de células y metabolitos muestreados por medio de tinciones con fluorocromos que se unen a componentes celulares específicos por lo que permite la caracterización de las células vivas, muertas o dañadas [33], [47], [110].

Se han desarrollado diversas tecnologías para el control y remoción de los bioaerosoles en aire de interiores. Las tecnologías físicas, térmicas y químicas son efectivas por un tiempo aunque involucran altos costos energéticos y pueden representar un medio de acumulación y proliferación de microorganismos por las condiciones de humedad y temperatura [49], [50]. Dentro de las técnicas de oxidación avanzada, la fotocatalisis heterogénea representa una alternativa viable

ya que se producen radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), los cuales son altamente reactivos y son consideradas las especies oxidantes dominantes que contribuyen a la mineralización de los bioaerosoles [4], [17] mediante el rompimiento de la membrana celular, causando la oxidación de las proteínas (desnaturalización) y daño al ADN causando la inactivación o muerte celular [70].

Se han evaluado los efectos antimicrobianos de varios óxidos metálicos como el TiO_2 [5], [18], [19], [61], ZnO [61], [72], [74], AgO [75] o CuO [74], [79], [111], [112]. Se ha estudiado el efecto antimicrobiano que tienen las nanopartículas de ZnO y sin irradiación para la inactivación de *E. coli* en agua obteniendo hasta un 90% de inactivación celular por la acumulación de los iones de Zn^{2+} en espacios intracelulares [74] y para la inactivación de *Campylobacter jejuni* y *Salmonella entérica* donde se demostró una modificación morfológica celular por el contacto de las nanopartículas con la membrana celular y una inactivación del 100 % para 1×10^4 UFC/mL después de 16 horas de contacto [113], ambos estudios se han realizado en sistemas en lote. También se ha estudiado el efecto antimicrobiano del TiO_2 y ZnO en procesos fotocatalíticos en lote desarrollados en agua para la inactivación del 100% de células de *E. coli* (concentración inicial de 1×10^7 UFC/mL) y se demostró que se producen 3 tipos de especies reactivas oxidantes: radical superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (OH^\cdot) y oxígeno (O_2) que atacan las membranas celulares además de la liberación de iones de Zn^{2+} que dañan a las células [70].

Debido a la alta efectividad para la inactivación microbiana en sistemas acuosos se han estudiado procesos continuos para la inactivación de bioaerosoles sintéticos. Los bioaerosoles sintéticos son aquellos con cultivos prefabricados de bacterias u hongos con especies y concentraciones de nebulización conocidas como *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium* [61], *Staphylococcus epidermidis* o *Bacillus subtilis* [19] que son comúnmente encontradas en aire ambiente. Los bioaerosoles sintéticos son generados a partir de cultivos con una concentración conocida, dichos cultivos son sometidos a equipos que aerolizan las soluciones para poder deshidratarlas y posteriormente son sometidos a equipos nebulizadores que emiten los microorganismos con una humedad controlada y en forma de gotas. Los resultados de estos estudios son diversos debido a que se ha alcanzado una inactivación de bioaerosoles sintéticos dentro del rango de 20-99% pero es necesario recordar que los estudios se han desarrollado con 1-4 géneros de microorganismos y con concentraciones menores a 10^7 UFC/m³aire [19], [20], [114], [115]. Por ejemplo, el TiO_2 ha sido impregnado en monolitos de acetato de celulosa para la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles sintéticos (*E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Aspergillus fumigatus*, y *Penicillium spp.*) con un tiempo de residencia (TRG) de 18 s y con una eficiencia arriba del 80% para hongos y bacterias [20]. Así mismo, se han evaluado las nanopartículas de P25-Degussa (TiO_2) impregnadas en filtros HEPA para la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles sintéticos compuestos de *Aspergillus niger*, *Penicillium citri-num*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Bacillus subtilis* con un

TRG de 3.43 s donde se alcanzó una inactivación de 60% para hongos y 80% para bacterias [19].

Por otro lado, Sánchez y col. (2012) [61] estudiaron la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles, de un laboratorio de 42 m² ocupado por cinco personas, con TiO₂, impregnado en Tereftalato de Polietileno (PET), y con un tiempo de residencia de gas en el fotorreactor de 0.12 s. Encontraron una eficiencia de inactivación para bacterias de hasta 76% y sin inactivación significativa para hongos. El estudio fue realizado con impactadores Andersen por lo que el análisis de bioaerosoles involucra métodos de cultivo dependiente y, como consecuencia, subvaloran la concentración y diversidad de los bioaerosoles.

La pérdida de los semiconductores en la fase gas en sistemas de flujo continuo es uno de los problemas más importantes de los sistemas fotocatalíticos operados en flujo continuo debido a su bajo tamaño (2 – 50 nm) [4], [114], [115], por tal razón la impregnación de los semiconductores en materiales como polímeros, fibra de vidrio, filtros de celulosa, perlita, placas de vidrio de cuarzo y otros parece ser una alternativa viable para evitar este problema [18]–[20], [61], [87].

Debido a lo anterior, el objetivo de esta investigación fue estudiar la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles reales emitidos por un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo. Los catalizadores ZnO y TiO₂ impregnados en perlita fueron usados como sistemas fotocatalíticos y la técnica de citometría de flujo se utilizó para cuantificar y caracterizar las células bacterianas vivas, muertas y dañadas de las muestras de bioaerosoles. Para la concentración total de microorganismos fúngicos se usó la técnica de microscopia de epifluorescencia. De acuerdo a nuestro conocimiento, ningún otro estudio ha reportado este proceso en la literatura.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Caracterización e impregnación de catalizadores

2.1.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La morfología del ZnO se muestra en la Figura 26. Se determinó que el ZnO tiene una forma hexagonal característica del zinc [31], además, se observó un empaquetamiento de cristales. En la Figura 27 se muestran los cristales de TiO₂ cúbicos y aglomerados.

En las Figuras 26 y 27 se muestra que la impregnación de los fotocatalizadores es homogénea, aunque no con el mismo grado de impregnación de 0.129 g_{catalizador}/g_{soporte} y 0.343 g_{catalizador}/g_{soporte} para ZnO y TiO₂, respectivamente y como se discute más adelante. Por los análisis elementales EDS (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy) que se hicieron con el equipo FEI QUANTA 250 se determinó que la forma de impregnación no modifica ni la composición de los catalizadores.

Además, se ha establecido que el método de impregnación tampoco modifica las características cristalográficas de los polvos [31], [90].

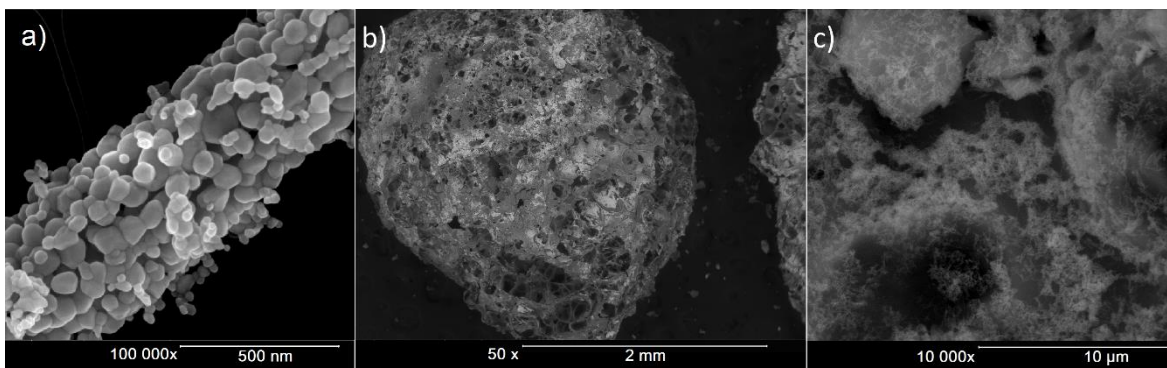


Figura 26. Caracterización morfológica y de distribución de ZnO sobre perlita; a) Nanopartícula ZnO, b) y c) ZnO/Perlita

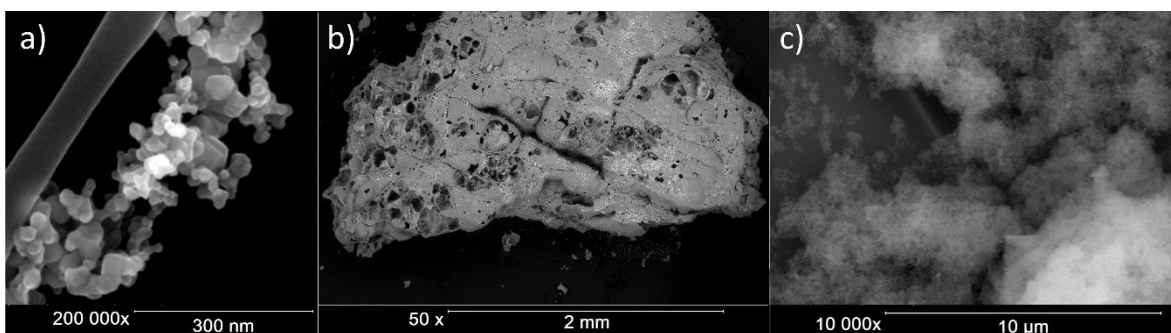


Figura 27. Caracterización morfológica y de distribución de TiO₂ sobre perlita; a) Nanopartícula TiO₂, b) y c) TiO₂/Perlita

2.1.2 Fisorción

El A_{BET} obtenida para el ZnO sintetizado y el TiO₂ comercial fue de 38.24 g/m² y 53.31 g/m², respectivamente. Además, ambos catalizadores tienen una isoterma tipo IV (Figura 28), la cual es representativa de sólidos mesoporosos dominados por una fisorción en multicapas [89]. Se obtuvieron lazos de histéresis tipo H₃ para ambos catalizadores y esto indica que los sólidos forman aglomeración [89] como se puede notar en las Figuras 26 y 27. El A_{BET} para ZnO fue 2.46 veces más alta que el valor reportado por Saucedo y Arriaga (2015) [87]. Lo anterior puede relacionarse con los cambios en la temperatura durante la síntesis del catalizador la cual fue 10°C mayor. Por otro lado, el A_{BET} de TiO₂ obtenida coincide con el rango del área superficial especificado por el proveedor.

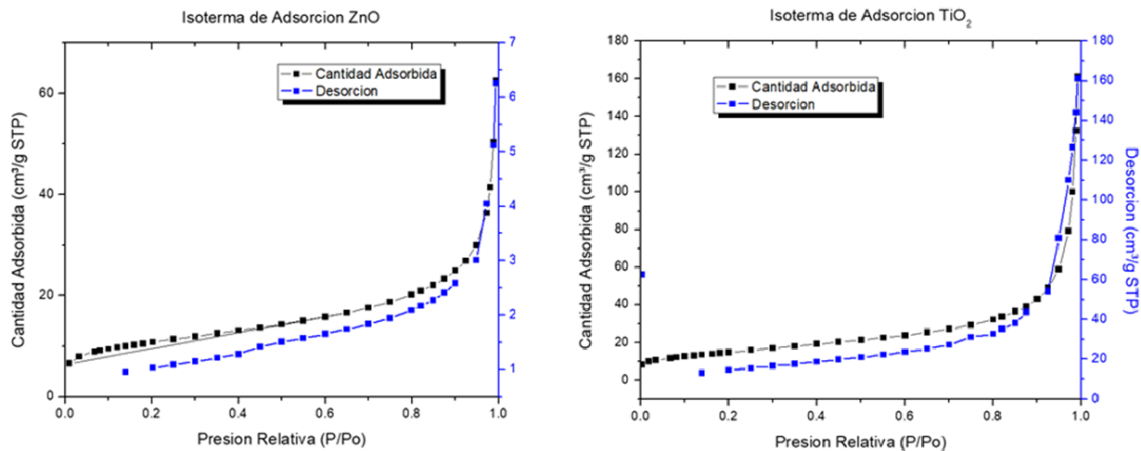


Figura 28. Isothermas de adsorción para los catalizadores

2.1.3 Mediciones de XRD

Los difractogramas para cada uno de los catalizadores obtenidos fueron comparados con los estándares de la base de datos de la JCPDS observando el pico característico de anatasa a $25-2\theta$ para TiO_2 y $36.26-2\theta$, 34.432θ y $31.77-2\theta$ para la forma cristalina hexagonal del ZnO (Figura 29). Usando los datos de XDR, el tamaño de las nanopartículas fue analizado usando la Ecuación 9, descrita anteriormente (capítulo III). El tamaño de cristal para el ZnO y el TiO_2 fue de 28.85 nm y 19.37 nm, respectivamente. El tamaño de partícula encontrado para el TiO_2 coincide con el rango del área superficial especificado por el proveedor, sin embargo, el tamaño reportado por Saucedo y Arriaga (2015) [87] para el cristal de ZnO es de 25.6 nm y el tamaño obtenido en el presente estudio es 1.12 veces mayor por la modificación de 10°C en la temperatura de síntesis.

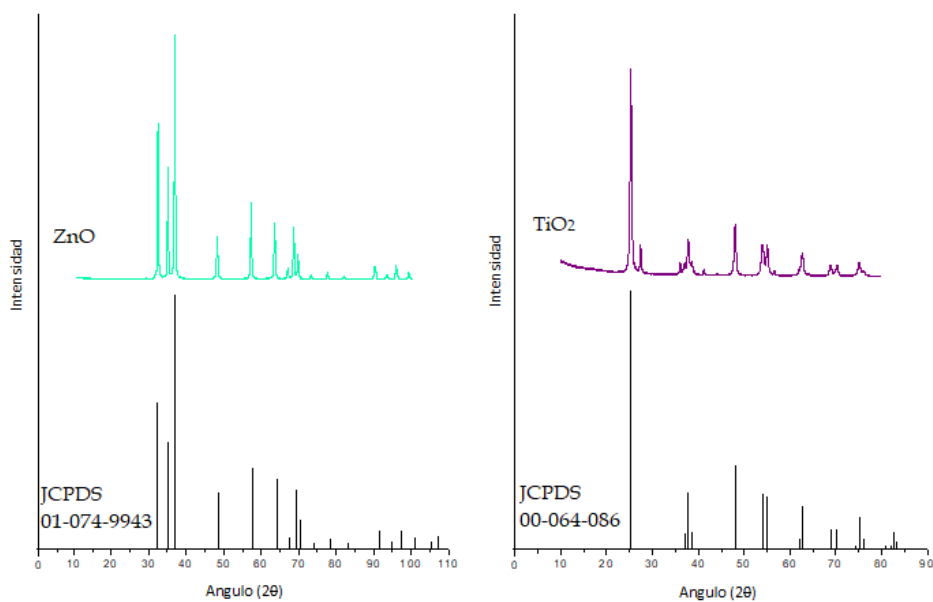


Figura 29. Difractogramas de ZnO y TiO_2

Durante el análisis también se determinó con el software *EVA Analysis* que el TiO_2 estaba compuesto de 87.65% de la fase cristalográfica Anatasa y de 12.35% de la fase cristalográfica de Rutilo. También se identificó que la fase cristalográfica del ZnO fue 100% la de la Zincita-Wurzita. Ambas fases dominantes en los catalizadores hacen propicio desarrollar los procesos fotocatalíticos [90], [114].

3.1.4 RAMAN

La Figura 30 muestra el espectro Raman de los catalizadores donde se pueden observar las frecuencias vibracionales características de cada uno de los catalizadores [90], [114]. Además, por los análisis de XRD, se confirma que ambos semiconductores tienen las fases cristalográficas necesarias para desarrollar la fotocatalisis.

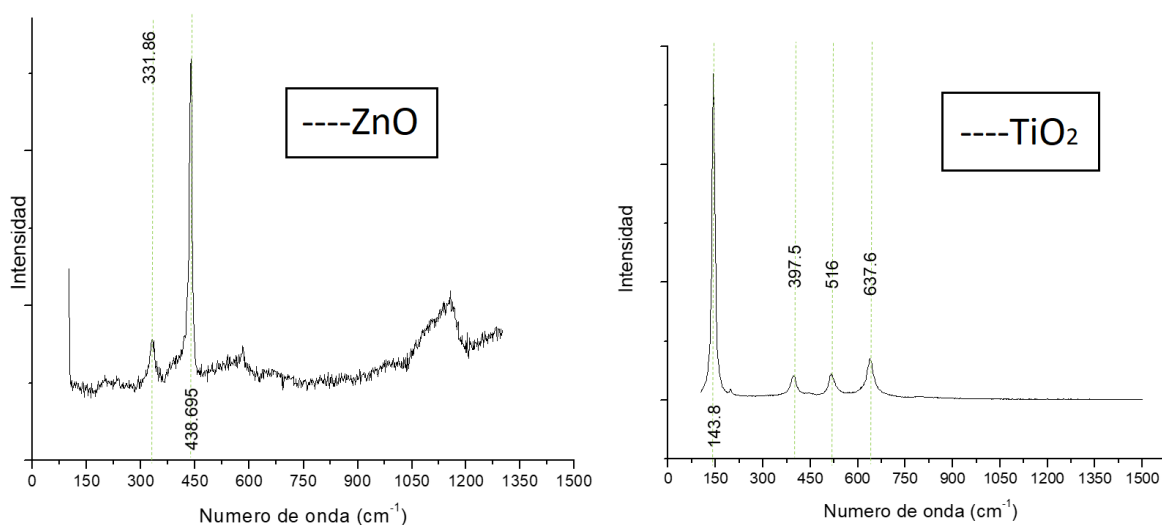


Figura 30. Espectros Raman de ZnO y TiO_2

2.1.5 Gravimetría

El ZnO impregnado en perlita tuvo un grado de Impregnación (GI) de 0.129 $\text{g}_{\text{ZnO}}/\text{g}_{\text{Perlita}}$ y el TiO_2 tuvo un GI de 0.343 $\text{g}_{\text{TiO}_2}/\text{g}_{\text{Perlita}}$. La Capacidad de Retención de Agua (CRA) de $\text{ZnO}/\text{Perlita}$ y $\text{TiO}_2/\text{Perlita}$ fue de 2.79 $\text{mL}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{Perlita}}$ y 2.89 $\text{mL}_{\text{agua}}/\text{g}_{\text{Perlita}}$, respectivamente. La CRA es un parámetro importante en el proceso fotocatalítico debido a que la producción de radicales hidroxilo depende de esta [17], [31].

Considerando una densidad aparente de 0.15 g/mL para cada uno de los soportes impregnados, se determinó que se requieren 49.6 mL de $\text{ZnO}/\text{Perlita}$ y 19.3 mL de $\text{TiO}_2/\text{perlita}$ para tener 1 g de cada uno de los catalizadores en el fotorreactor.

2.2 Desempeño de los reactores

El biofiltro alcanzó y mantuvo un estado estable durante 130 días con una eficiencia de remoción (ER) de 100% de acetato de etilo (EA). Así, la salida del biofiltro estuvo principalmente compuesta de bioaerosoles y de dióxido de carbono producido a una

velocidad de $499.6 \pm 349.7 \text{ g/m}^3\text{h}$ durante la mineralización del EA, la cual fue de $92.53 \pm 3.51 \%$, dicho valor se calculó por medio del balance de masa (Tabla 9).

Lo anterior garantiza que el proceso de post-tratamiento fotocatalítico se enfocó a la inactivación de bioaerosoles debido a que las reacciones con el CO_2 son despreciables por las condiciones operacionales y la falta de sustituciones de aniones aliovalentes con el ZnO y TiO_2 [116].

Debido a que se ha reportado que el tiempo de vida media de los catalizadores es un factor limitante [31], se decidió evaluar los sistemas durante 96 h. En las primeras 12 horas se tomaron dos muestras de la salida del fotorreactor cada hora. A partir de las 12 horas se tomó una muestra cada 12 horas hasta completar 96 h de evaluación como se muestra en las Figuras 33 y 34.

2.2.1 Controles fotolíticos y de adsorción

Los controles de adsorción y de fotólisis se desarrollaron para determinar la contribución de la irradiación UVC y el punto de equilibrio en el que el empaque del fotorreactor alcanzaba la saturación por bioaerosoles [12], [20], [67], es decir, el punto en el que la concentración de bioaerosoles a la entrada del fotorreactor era la misma que a la salida. La Figura 31 y 32 muestran el comportamiento de los controles de fotólisis y de adsorción, respectivamente; en función de las células vivas, muertas y dañadas. Además, en los gráficos se puede observar una línea sobre las barras que indica la cantidad total de bioaerosoles medida a través del tiempo. El Tiempo 0 (T_0) corresponde a la entrada de bioaerosoles para cada sistema.

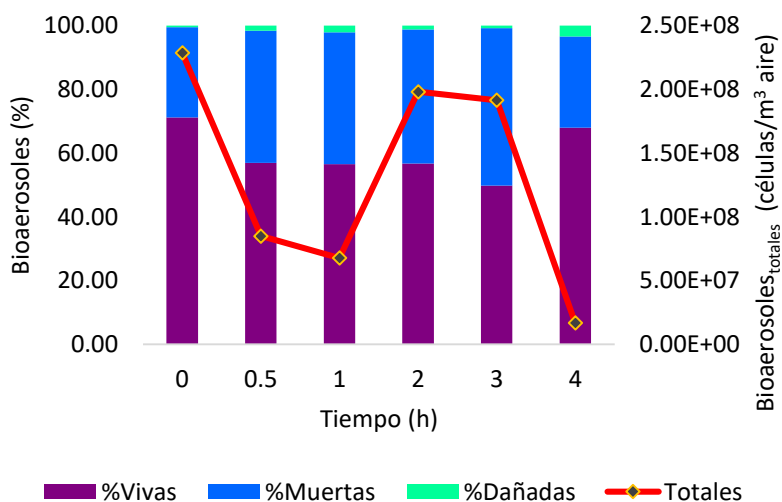


Figura 31. Control de fotólisis

Un análisis de comparación de medias múltiples Tukey fue desarrollado con el software "Rstudio". Con el análisis estadístico se determinó que no existe un efecto fotolítico significativo sobre la composición de las muestras de bioaerosoles ($P > 0.05$), lo cual significa que el porcentaje de células vivas o muertas no cambia

significativamente con respecto al tiempo debido a que el tiempo de residencia de gas es muy bajo con respecto a otros estudios que han desarrollado procesos germicidas con valores superiores a 1 hora [12], [20], [66], [67]. La Figura 31 muestra la composición de las muestras de bioaerosoles durante el control fotolítico.

Los experimentos control de adsorción, sin irradiación, indicaron que el equilibrio fue alcanzado a las 20 horas para ambos semiconductores. Esto se muestra con la línea del total de bioaerosoles marcada en la Figura 32A y 32B. Además, se puede observar que no hay un cambio en la composición de las muestras de bioaerosoles, por lo que se determinó con un análisis ANOVA que el contacto de los bioaerosoles tanto con ZnO y TiO₂ no tiene un efecto significativo en la inactivación de bioaerosoles (valor de P = 0.99).

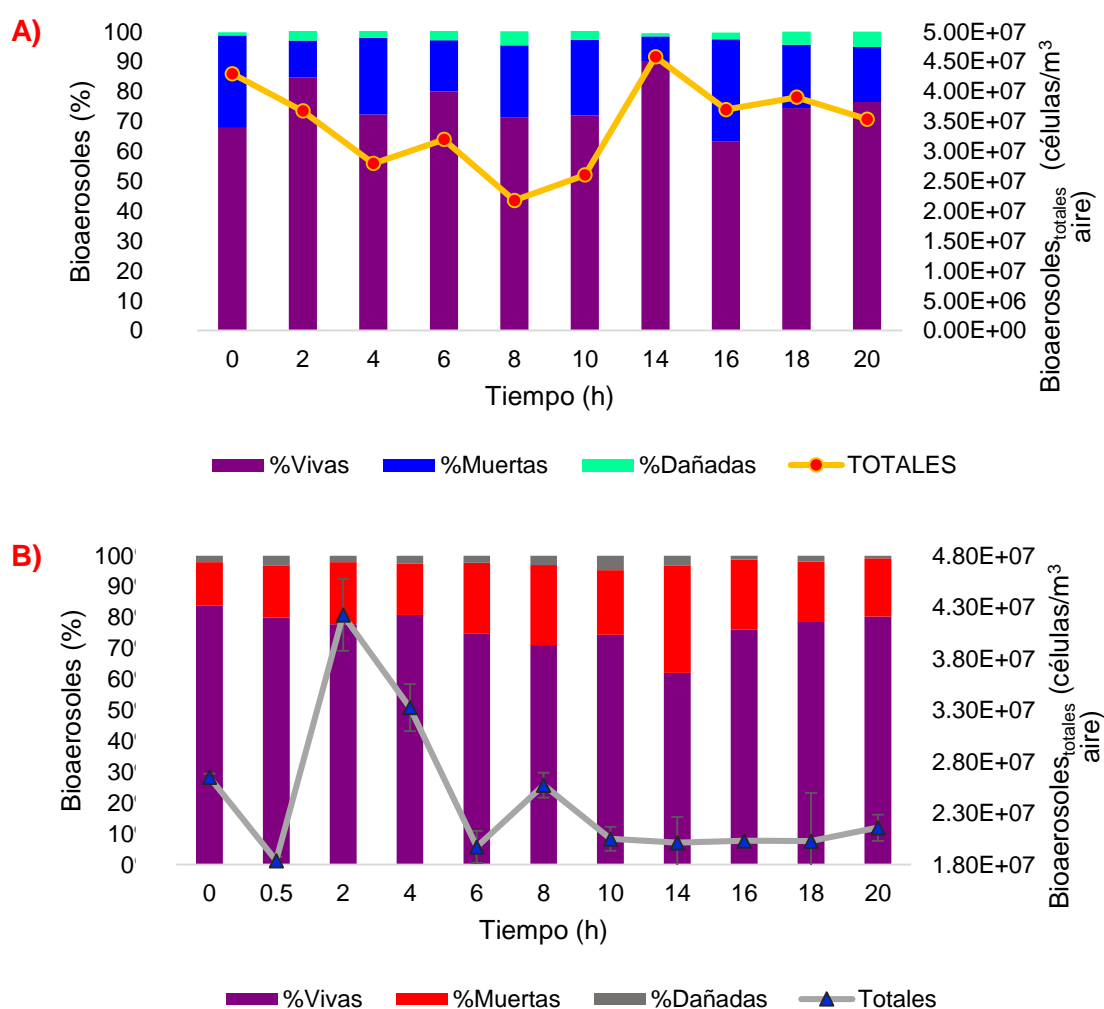


Figura 32. Controles de adsorción; A) ZnO/Perlita y B) TiO₂/Perlita

2.2.2 Proceso de fotocatalisis

Una vez que el equilibrio de adsorción fue alcanzado, se inició el proceso de fotocatalisis para cada catalizador. Las Figuras 33 y 34 muestran la composición de

las muestras a la entrada (T_0 en ambos gráficos) así como las 18 salidas evaluadas a través del tiempo para ambos sistemas fotocatalíticos (ZnO/Perlita y TiO_2 /Perlita)

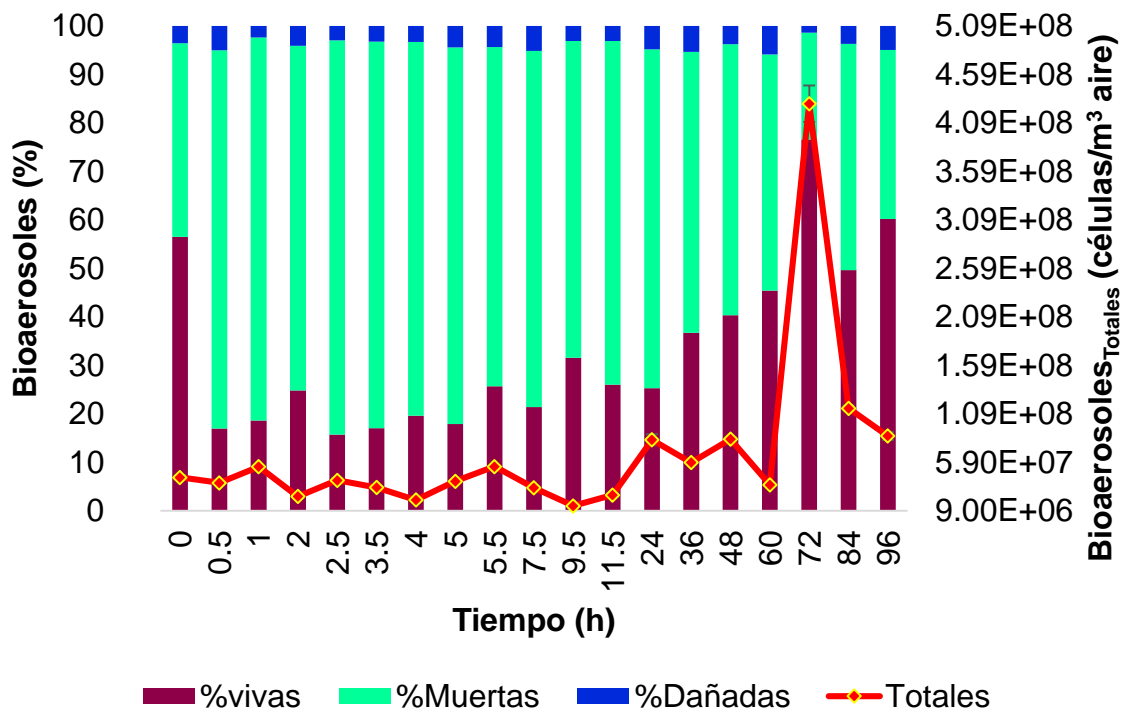


Figura 33. Proceso fotocatalítico ZnO/Perlita

En la Figura 33 se puede observar la inactivación de bioaerosoles hasta las 60 horas con el sistema ZnO/Perlita. Lo anterior se logra comparando la composición de las muestras de salida con respecto a la de la entrada (T_0), así mismo se puede observar que en el tiempo 2.5 h se muestra la mayor eficiencia de inactivación con un porcentaje de 72% de inactivación de bioaerosoles. Además, el porcentaje de inactivación se mantuvo con un promedio de 70 ± 1.5 % durante 7.5 horas.

En la Figura 34 se puede observar que el sistema TiO_2 /Perlita fue activo la primera hora del proceso, donde se registró un 40% de inactivación de bioaerosoles. Sin embargo, después de esta primera hora del proceso se puede observar la desactivación del catalizador ya que la composición de las células vivas de las muestras a la salida es igual o superior con respecto a las células vivas a la entrada.

La baja inactivación de bioaerosoles, en el sistema TiO_2 /Perlita, se puede asociar al escaso grado de impregnación que se obtuvo ya que en un estudio realizado por Chuaybamroong y col. (2010) [19] se reportó el uso de nanopartículas de TiO_2 (P25 Degussa) impregnadas en filtros HEPA con una concentración de 5.45 a 9.15 veces mayor que la empleada en la presente investigación y un TRG de 3.42 s. Chuaybamroong y col. (2010) [19] reportaron hasta una eficiencia de inactivación para cepas de bacterias (*Staphylococcus epidermidis* y *Bacillus subtilis*) y hongos (*Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*), de 80% y 60%, respectivamente. La

concentración inicial de hongos y bacterias fue de 10^5 UFC/mL y 10^7 UFC/mL, respectivamente.

Aunado al bajo grado de impregnación en el sistema TiO_2 /Perlita, la eficiencia de inactivación también se puede asociar al TRG de 5.72 s operado en el presente estudio. Rodrigues-Silva y col. (2017) [20] desarrollaron un proceso de inactivación fotocatalítico de cepas definidas de bioaerosoles (*Psuedomonas aeruginosa*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Aspergillus fumigatus*) con un TRG de 18 s y con 9 capas de nanopartículas de TiO_2 impregnados en soportes de acetato de celulosa. Rodrigues-Silva y col. (2017) [20] reportaron una eficiencia de inactivación de 88 – 98% para bacterias (concentración inicial de 10^6 UFC/mL) y de 80% para el hongo (concentración inicial de 10^4 UFC/mL). Por lo que se determinó que, si se desea obtener una mayor eficiencia de inactivación de bioaerosoles, en el presente estudio es necesario desarrollar un proceso con un TRG mayor y con una mayor cantidad de catalizador impregnado en la perlita.

De igual forma, la desactivación de los catalizadores se asocia directamente con la saturación de su superficie con las moléculas del vapor de agua, así como con las sustancias de lisis celular y los bioaerosoles. Se ha reportado que el TiO_2 se sobresatura fácilmente de moléculas de vapor de H_2O lo que pudo impedir o aumentar la resistencia a la transferencia de masa de los bioaerosoles de la fase gaseosa a la fase acuosa que rodea el catalizador y con ello provocar que los bioaerosoles ya no pudieran estar en contacto con los radicales hidroxilo [17], [118].

Por otro lado, los bioaerosoles que lograron difundirse hasta quedar en contacto con el catalizador se oxidaron por las reacciones con los radicales hidroxilo, liberando exopolisacáridos o sustancias intracelulares (Figura 39). Dichas sustancias provocaron el envenenamiento o ensuciamiento del catalizador y su posterior desactivación [17], [117]. Lo anterior fue reportado por Jacoby y col. (1998) [18] cuando estudiaron el efecto fotocatalítico del TiO_2 en *E. coli*. Observaron que lograban destruir la membrana celular de las bacterias, pero las sustancias de lisis celular ocasionaban la desactivación del catalizador. Así mismo, Saucedo y col. (2015) [87] propusieron el mecanismo de transporte de moléculas de hexano a través de la fase gaseosa a la fase acuosa de ZnO impregnado en perlita para la degradación fotocatalítica del hexano. Dicho mecanismo se puede adaptar al presente estudio y se muestra en la Figura 35.

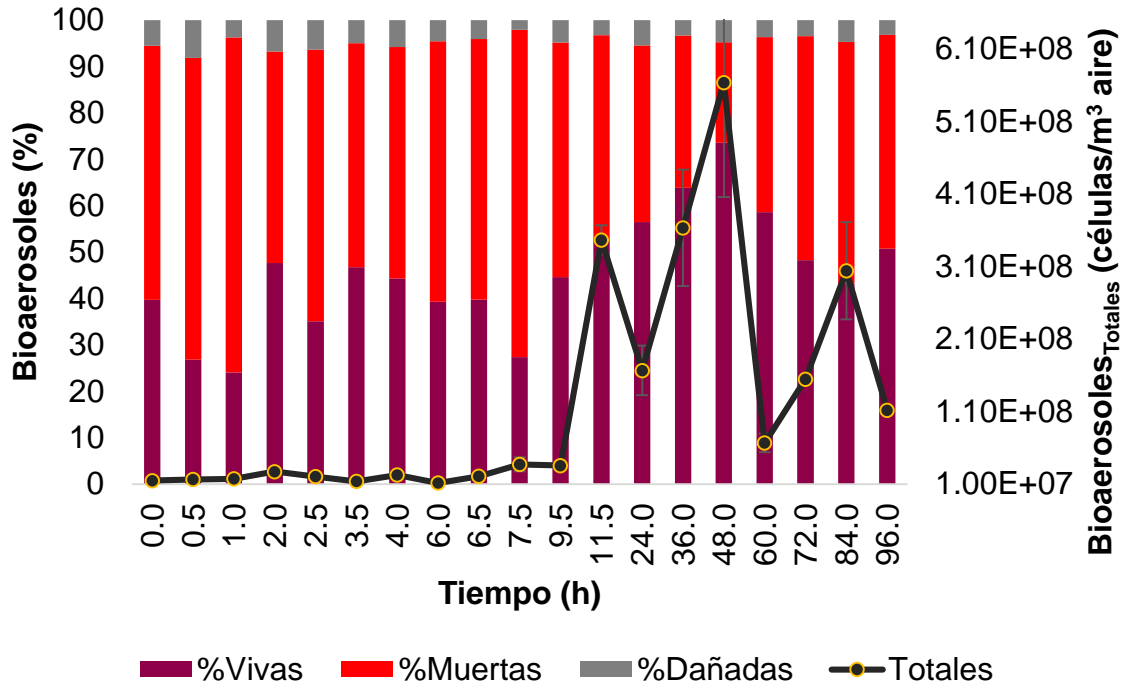


Figura 34. Proceso fotocatalíticoTiO₂/Perlita

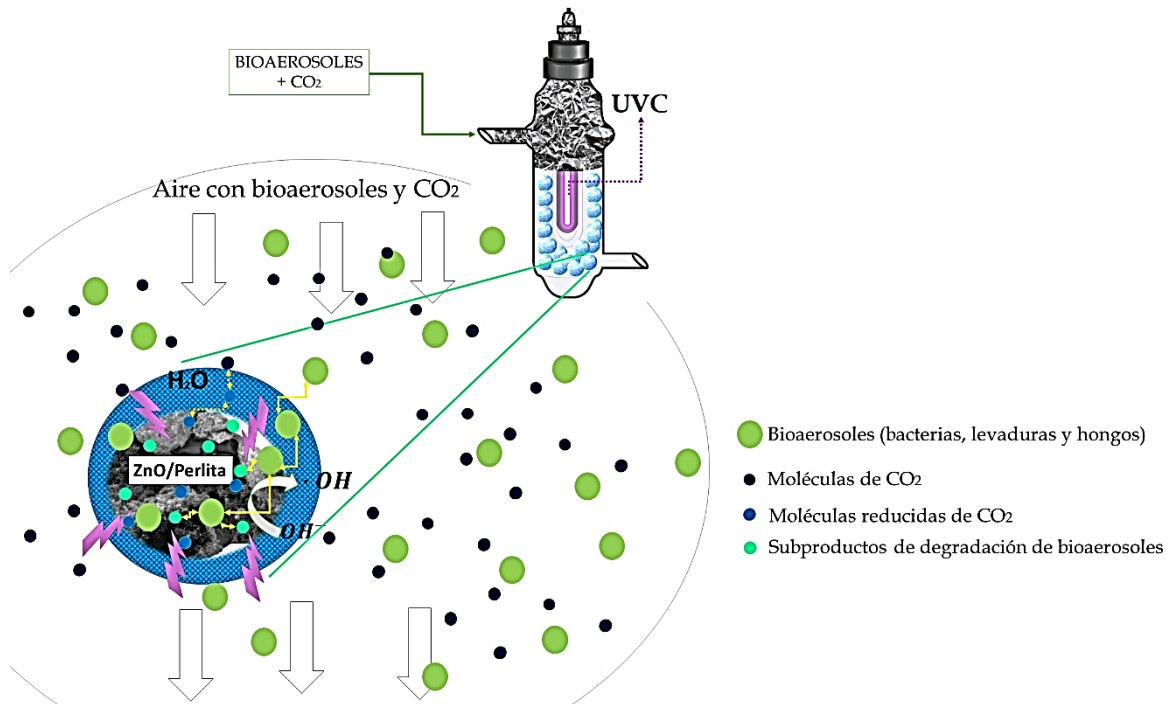


Figura 35. Transferencia de bioaerosoles y CO₂ a través de la fase gaseosa y la fase acuosa en el sistema ZnO/Perlita (imagen modificada y adaptada de Saucedo y col. 2015) [31].

Los fluorocromos Naranja de Tiazol y Yoduro de Propidio empleados en el presente estudio se entrelazan y unen con una alta especificidad a los ácidos nucleicos de

las células de bacterias y de levaduras, sin embargo, no tiñen hongos (propágulos fúngicos) ni conidias debido a su pared celular resistente y gruesa que los protege de daños físicos, químicos y biológicos [118], [119], [120].

Considerando lo anterior, se usó el Calcofluor-White para teñir y cuantificar el total de esporas fúngicas y conidias que emitió el biofiltro (ver Figuras 36 y 37) ya que este fluorocromo es específico para los polisacáridos (1 – 3) y (1 – 4) – β – D – Glucano (Celulosa y Quitina, respectivamente) [92], [121]. Estos polisacáridos son las especies químicas dominantes de las paredes celulares de las esporas fúngicas [92], que una vez teñidas con el Calcofluor-White presentan fluorescencia cuando se irradian con una longitud de onda cercana a la región UVA y una corta longitud de onda del espectro visible (375 – 470 nm) [92], [121].

Desafortunadamente, el Calcofluor-White no es selectivo entre esporas fúngicas viables y no viables [3], [92], por tal razón, no fue posible calcular una eficiencia de inactivación fotocatalítica fúngica real. La cuantificación de las esporas fúngicas no se incluye en la composición porcentual de las muestras de bioaerosoles mostradas en las Figuras 33 y 34 ni en el balance global de bioaerosoles (Tabla 8). Sin embargo, en la Figura 36 y 37 se muestra la concentración total de esporas fúngicas cuantificadas en las muestras de entrada (T_0) y las muestras de salida de los sistemas fotocatalíticos.

Así, la concentración total de esporas fúngicas durante la evaluación del sistema fotocatalítico ZnO/Perlita se muestra en la Figura 36 y se puede observar que las muestras de bioaerosoles colectadas están compuestas de 85 – 95 % de bacterias y levaduras y de 5 – 15 % de esporas fúngicas. Además, se determinó un promedio de disminución en la concentración de esporas fúngicas a la salida, durante las primeras 5 horas del sistema, de 63.08 ± 13.63 % con respecto a la concentración de esporas fúngicas en la entrada (T_0). Lo que corrobora que en las primeras horas de operación el sistema fotocatalítico fue más eficiente y estable.

Por otro lado, en la Figura 37 se puede observar la concentración total de esporas fúngicas durante la evaluación del sistema fotocatalítico TiO₂/Perlita donde las muestras de bioaerosoles colectadas están compuestas de 81 – 97 % de bacterias y levaduras y de 3 – 19 % de esporas fúngicas. En la primera hora de operación del sistema se obtuvo una disminución en la concentración de esporas fúngicas a la salida de 11.68 ± 5.41 , sin embargo, de la segunda hora hasta la hora 2.5 se obtuvo un promedio de disminución en la concentración de esporas fúngicas en la salida de 53.13 ± 4.70 % con respecto a la concentración en la entrada (T_0). Esto demuestra que, en contraste para bacterias y levaduras, para la disminución de esporas fúngicas, el sistema TiO₂/Perlita tuvo una mejor eficiencia a partir de la segunda hora de operación del sistema.

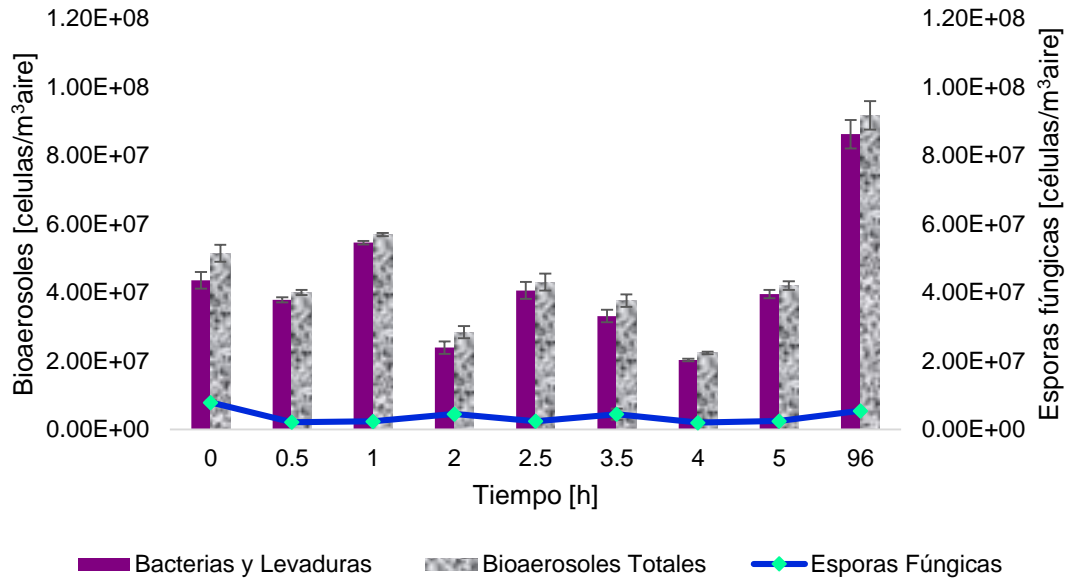


Figura 36. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema ZnO/Perlita

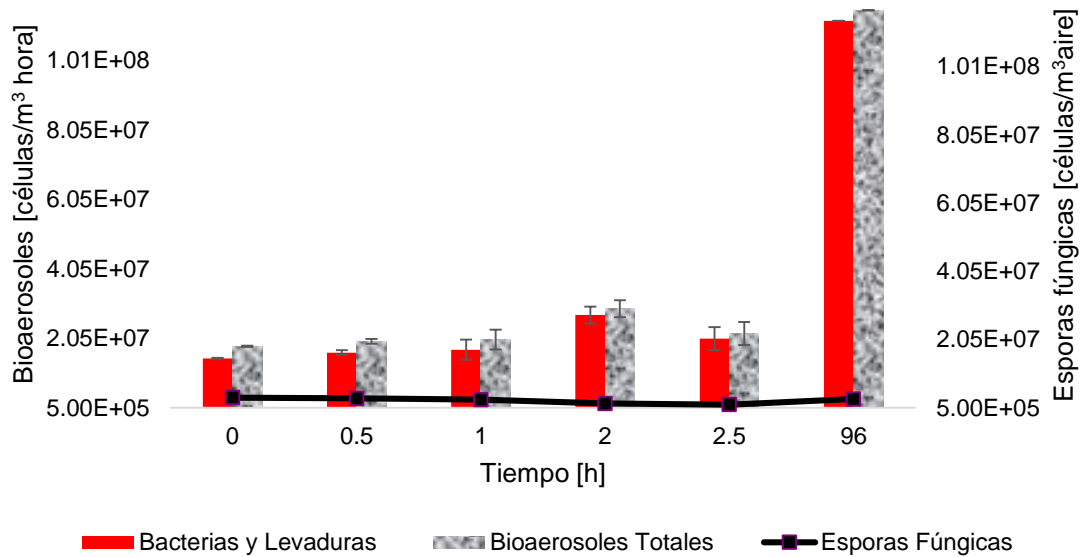


Figura 37. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema TiO2/Perlita.

Además, se obtuvieron microfografías de las muestras de soporte fijadas con GHT. En la Figura 38 (Control, A, B y C) se muestran los bioaerosoles como semi-esferas con un tamaño entre 2 a 12 μm determinado con el equipo SEM QUANTA 250. La microfografía en la Figura 38-Control muestra la retención de bioaerosoles sobre la perlita sin impregnación de ZnO y se muestra la formación de biopelícula (marcada con círculos azules en la microfografía) sobre el soporte. El ZnO cubrió la superficie rugosa de la perlita con una forma de “espuma o nieve”. En la Figura 38A se puede

observar que existen células retenidas en el soporte impregnado, sin embargo se observan células aisladas o únicas debido a que el ZnO inhibe la formación de la biopelícula de células debido a la citotoxicidad que se promueve por los iones de zinc [74], [115].

Además, se observó una aglomeración de cristales de ZnO (Figura 38C) donde los cristales fueron marcados dentro del círculo verde. La aglomeración de cristales se puede atribuir a la presencia de sustancias de la lisis celular como exopolisacáridos, la humedad dentro del fotorreactor y el pH del gas que entra al fotorreactor [117]. Estos cristales se pueden observar en las células marcadas con un rectángulo verde en la Figura 38C.

En la Figura 38 (B y C) se muestra una delimitación de espacio entre el ZnO y los bioaerosoles. Esta delimitación tiene una extensión dentro de un rango de 500 – 800 nm. Lo anterior se debe al efecto mínimo de retracción que se ha reportado que causa el GTH usado para la fijación de células [122], [123]. También podría sugerir una modificación de tamaño celular debido a la citotoxicidad que pueden provocar los iones de Zn^{2+} en contacto con las células [5], [74], el cual, como se demostró con el control de adsorción, el contacto por sí mismo entre el catalizador y la célula (sin irradiación) no es suficiente para causar la inactivación celular, pero sí para dañar su morfología como se ha demostrado con la cepa *Campylobacter jejuni* donde la bacteria cambió su morfología de bastones a cocos en el estudio demostrado en el estudio realizado por Xie y col. 2011 [73]. La detección de bioaerosoles en el sistema TiO_2 /Perlita no fue posible de observar. Esto puede ser atribuido a la lisis celular sobre el TiO_2 como lo reportado por Jacoby y col. (1998) [18] para la inactivación fotocatalítica de *E. coli*.

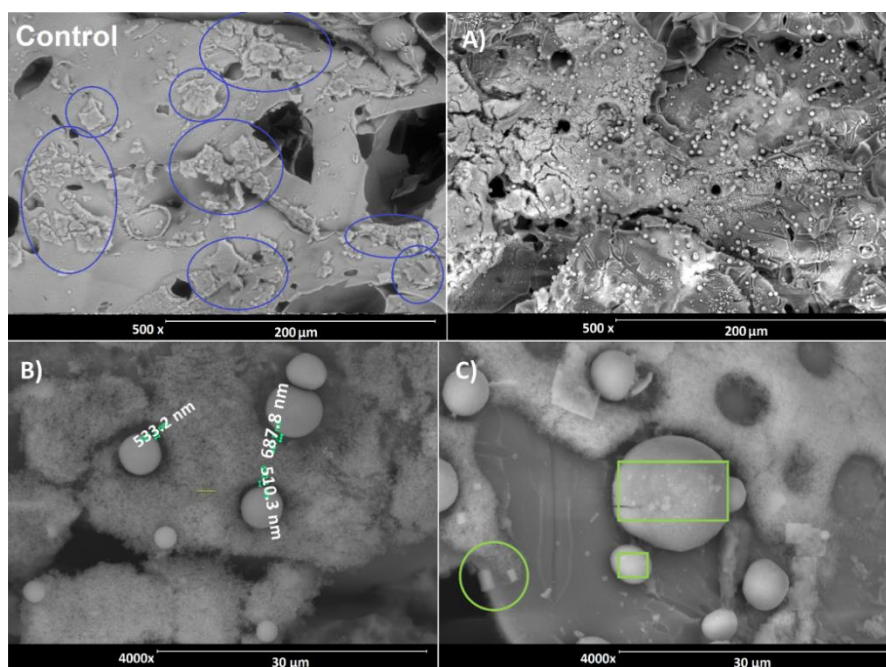


Figura 38. Micrografías de bioaerosoles en Perlita sin impregnación de ZnO (Control) y ZnO/Perlita (A, B y C).

A pesar de la diferencia en el tamaño de los catalizadores empleados en el estudio, se puede observar que el sistema más eficiente fue ZnO/Perlita en un porcentaje de inactivación de bioaerosoles 30% mayor al de TiO₂/perlita y un tiempo de vida media, 7.5 veces superior.

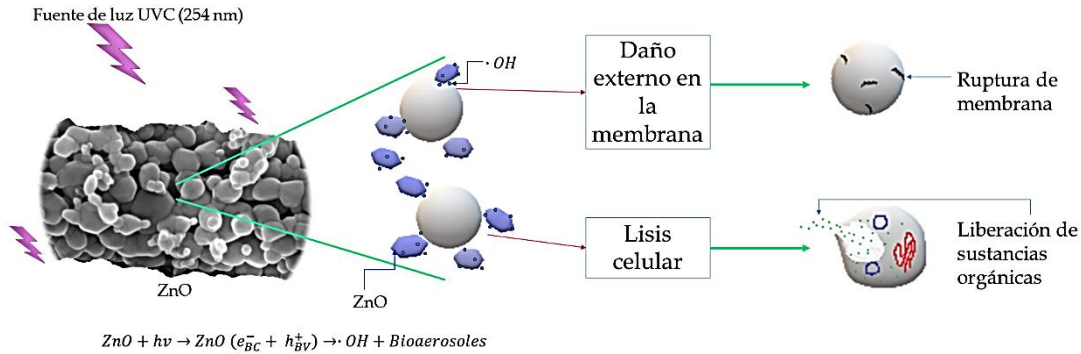


Figura 39. Mecanismo de inactivación de bioaerosoles en sistema ZnO/Perlita

Con base en las micrografías mostradas en la Figura 38, se propuso un mecanismo de inactivación de bioaerosoles, en el sistema ZnO/Perlita, por medio de daño externo en la membrana de los mismos, así como la lisis celular y liberación de las sustancias endopoliméricas (orgánicas) que envenenaron los catalizadores y provocaron su desactivación. Dichos mecanismos de inactivación de bioaerosoles se muestran en la Figura 39. Lo anterior también se ha reportado en diferentes estudios de inactivación fotocatalítica de microorganismos como el realizado por Watts y col. (1995) [124] donde trataron una mezcla de microorganismos coliformes y coliformes totales, entre ellos *E. coli*, provenientes del tratamiento secundaria de una planta de tratamiento de aguas residuales. Watts y col. propusieron que el principal daño a los microorganismos se provocaba en la membrana celular y en la pared celular. Además, el daño presentado en las micrografías mostradas en la Figura 38 también se pueden apreciar en el mecanismo propuesto por Podporska-Carroll y col. (2017) [81] por la irradiación con luz UV a las nanopartículas F/ZnO, el daño comienza en la membrana celular y posteriormente los radicales hidroxilo dañan el espacio intracelular de los microorganismos.

2.3 Balance de bioaerosoles

Para poder determinar una eficiencia de retención de bioaerosoles a través del tiempo se hizo un balance global evaluado a las 96 horas del proceso fotocatalítico, ya que es el tiempo en que se pudo extraer una muestra del soporte para el desprendimiento y posterior análisis celular. El balance global para ambos sistemas se muestra en la Tabla 8.

El balance se desarrolló con las ecuaciones 16, 17 y 18 para homogenizar unidades con respecto a las células acumuladas en el soporte:

$$Bioaerosoles (células) = X \frac{cel}{m^3 \text{ aire}} \left(\frac{0.0022 m^3}{min} \right) (Tiempo) \dots Ecuación 16$$

$$Bioaerosoles_{en\ soporte} (células) = X \frac{células_{retenidas}}{g_{soporte} * \mu L} (Volumen\ muestra)(Y\ g_{soporte}) \dots Ecuación\ 17$$

$$Balance\ global = Entrada - (\sum Salidas + Acumulación_{soporte}) \dots Ecuación\ 18$$

En la ecuación 16 se puede apreciar que se involucra el flujo del biofiltro que es el mismo que tiene el fotorreactor para poder considerar el tiempo de evaluación y la cantidad de células en la muestra medidas con el citómetro de flujo. Al final se obtiene el valor numérico de bioaerosoles en unidades de células que se pueden comparar con el número de células retenidas en el soporte (ecuación 17).

El balance global se calcula con el uso de la ecuación 18 donde se involucra la cantidad de células a la entrada durante las 96 horas y la suma de todas las células cuantificadas durante todo el proceso de fotocátalisis, así como la cantidad de células retenidas en el soporte.

Debido a que no se analizaron todas las muestras de la salida de cada sistema para calcular la cantidad de esporas fúngicas el balance global que se muestra en la Tabla 8 no incluye la cantidad de esporas fúngicas. Sin embargo, se determinó el porcentaje de esporas fúngicas retenidas en el soporte al final de las 96 h del proceso de fotocátalisis. Se retuvieron $9.11 \times 10^6 \pm 1.21 \times 10^5$ células/m³aire para el sistema ZnO/Perlita y $7.37 \times 10^6 \pm 3.34 \times 10^5$ células/m³aire para el sistema TiO₂/Perlita, lo cual corresponde a un 13.97% y 0.3% de bioaerosoles totales retenidos en el soporte respecto a los bioaerosoles totales que entraron en ese periodo.

Lo anterior sugiere que el sistema ZnO/Perlita tiene una menor eficiencia de inactivación para los esporas fúngicas suspendidos en el aire como se ha demostrado en experimentos en lote en agua con luz UVA [20]. Sin embargo, en el presente estudio se utilizó una irradiación de 254 nm para fotoexcitar el ZnO y la acumulación de esporas fúngicas en el soporte se puede deber a un proceso de sorción mostrado en las Figuras 33 y 34 a partir de la hora 72 en el sistema ZnO/Perlita y la hora 11.5 en el sistema TiO₂/Perlita.

Por otro lado, los números negativos expresados en la Tabla 8 se deben a que hubo un proceso de desorción de bioaerosoles, el cual también se puede apreciar en las Figuras 39 y 40 a partir de la hora 72 en el sistema ZnO/Perlita y la hora 11.5 en el sistema TiO₂/Perlita (línea de bioaerosoles totales sobre las barras en las gráficas). Lo anterior se atribuye a que el sistema está compuesto de catalizadores mesoporosos con isoterma tipo IV, lo cual permite procesos de fisorción no selectivos.

Con el balance global se demostró que en el sistema ZnO/Perlita el mayor porcentaje de células a la entrada del fotorreactor (T₀) es de vivas (70.90 %) y dicho porcentaje se mantiene después de las 96 h de operación del sistema. Lo anterior se atribuye a la desorción que existió a las 72 h de operación y a la desactivación del catalizador a las 60 h donde se puede notar que a partir de dicho periodo

aumenta el porcentaje de células vivas en la composición de las muestras a la salida del fotorreactor. Durante las últimas 24 h de operación del sistema se registró un promedio de $8.62 \times 10^7 \pm 4.00 \times 10^6$ células vivas, siendo este valor 133.48 veces mayor comparado con el de las primeras 7.5 h de operación, cuando el catalizador tuvo la mayor eficiencia de inactivación de los bioaerosoles, se registró un promedio de $6.46 \times 10^5 \pm 2.33 \times 10^5$ de células vivas a la salida del fotorreactor.

Tabla 8. Balance global para los sistemas fotocatalíticos.

Condiciones de muestreo en fotorreactor	Valor (Células _{totales})					
	ZnO			TiO ₂		
Células a la entrada	5.52x10 ⁸			1.87x10 ⁸		
	V	M	D	V	M	D
	70.90%	24.58%	4.52%	40.48%	55.89%	3.63%
Sumatoria de células en las 18 salidas	1.45x10 ⁹			2.87x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D
	67.35%	32.65%	7.01%	71.38%	23.59%	5.03%
Células retenidas en soporte (Acumulación _{soporte})	6.80x10 ⁷			2.82x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D
	45.56%	49.11	5.33%	25.14%	69.99%	4.87%
Balance global	-1.57x10⁹ células			-5.50x10⁹ células		

V= Células vivas; M= Células muertas; C = Células dañadas

En cambio, en el sistema TiO₂/Perlita se registró una menor cantidad de bioaerosoles totales a la entrada del fotorreactor (1.87×10^8 - T₀) y a partir de la hora 11.5 de operación se registró un proceso de desorción. A partir de esta hora la cantidad de bioaerosoles totales en las salidas del fotorreactor aumento 1 orden de magnitud con respecto a la cantidad en la entrada, demostrando la inestabilidad del sistema en términos de fisisorción y es por esto que se emite una mayor concentración de bioaerosoles totales al final de las 96 h de operación. Así mismo, se registró una cantidad 0.55 veces menor de células vivas retenidas en el soporte comparado con el soporte de ZnO/Perlita debido a la lisis celular sobre el TiO₂ [18].

El porcentaje de células dañadas se mantiene constante con un promedio de 5.02 ± 1.03 de células en el sistema ZnO/Perlita y de 4.51 ± 0.62 de células en el sistema TiO₂/Perlita. En ambos sistemas es al menos 1.38 y 1.17 veces mayor la cantidad de células dañadas a la salida y retenidas en el soporte, respectivamente, con respecto a las de la entrada.

3. CONCLUSIONES

No se detectó un efecto fotocatalítico significativo en la inactivación de bioaerosoles. Así mismo, el contacto de las células con el catalizador (sin irradiación) no tiene un efecto significativo en la inactivación de las mismas. Sin embargo, se comprobó la inactivación de bioaerosoles en flujo continuo con disminución máxima de 72% y 40% de células para el sistema ZnO/Perlita y TiO₂/Perlita, respectivamente. El periodo de máxima inactivación se registró a las 2.5 y 1 h para ZnO/Perlita y

TiO₂/Perlita, respectivamente por lo que se detectó la inactivación de ZnO después de las 60 h de operación, cuando la concentración de bioaerosoles a la salida del fotorreactor fue la misma que a la entrada, mientras que para el TiO₂ fue a la primera hora. Aunado a lo anterior, en el sistema ZnO/Perlita se puede detectar daño físico sobre las células, así como la prevención en la formación de biopelículas. Por otro lado, en el sistema TiO₂/Perlita no fue posible observar bioaerosoles.

El balance global de bioaerosoles demuestra que existen procesos de desorción sobre los sistemas fotocatalíticos por lo que el desprendimiento celular durante los procesos de fotocatalíticos se detectó a partir de las 72 h y 11.5 horas para los sistemas con ZnO y TiO₂, respectivamente.

Se comprobó que los bioaerosoles emitidos por el biofiltro están compuestos, en su mayoría, de bacterias y levaduras con un porcentaje de 80 a 97 % y con un porcentaje de 3 a 19 % de esporas fúngicas. Así, en el sistema ZnO/Perlita se registró un promedio de disminución en la concentración de esporas fúngicas a la salida de 63.08 ± 13.63 % con respecto a la concentración de esporas fúngicas en la entrada (T₀). Mientras que en el sistema TiO₂/Perlita el promedio de disminución en la concentración fue de 53.13 ± 4.70 % demostrando que el sistema una mejor eficiencia en retención de esporas fúngicas a partir de la segunda de operación del sistema.

Los mecanismos de inactivación de los bioaerosoles observado en las micrográficas obtenidas a través de microscopia electrónica de barrido fue por daño en la membrana de los bioaerosoles y lisis celular.

4. REFERENCIAS

- [1] A. Vergara-Fernández, V. Salgado-Ísmodes, M. Pino, S. Hernández, and S. Revah, "Temperature and moisture effect on spore emission in the fungal biofiltration of hydrophobic VOCs," *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 47, no. 4, pp. 605–613, 2012.
- [2] C. Wang, J. Y. Xi, and H. Y. Hu, "Reduction of toxic products and bioaerosol emission of a combined ultraviolet-biofilter process for chlorobenzene treatment," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 59, no. 4, pp. 405–410, 2009.
- [3] S. Esquivel-Gonzalez, A. Aizpuru, A. Patrón-Soberano, and S. Arriaga, "Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 123, pp. 78–86, 2017.
- [4] F. Chen, X. Yang, H. K. C. Mak, and D. W. T. Chan, "Photocatalytic oxidation for antimicrobial control in built environment: A brief literature overview," *Build. Environ.*, vol. 45, no. 8, pp. 1747–1754, 2010.
- [5] A. Pal, X. Min, L. E. Yu, S. O. Pehkonen, and M. B. Ray, "Photocatalytic Inactivation of Bioaerosols by TiO₂ Coated Membrane," *Int. J. Chem. React. Eng.*, vol. 3, pp. 1–12, 2005.

- [6] J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik, "Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 47, no. 3, pp. 187–200, 2003.
- [7] B. Ghosh, H. Lal, and A. Srivastava, "Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms," *Environ. Int.*, vol. 85, pp. 254–272, 2015.
- [12] C. Chang, S. LI, C. Huang, Y. Chen, and C. Chen, "Effects of ultraviolet germicidal irradiation and swirling motion on airborne *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* under various relative humidities," *Indoor Air*, vol. 23, no. Ultraviolet germicidal irradiation on pathogenic bioaerosols, pp. 74–84, 2012.
- [17] L. Zhong and F. Haghghat, "Photocatalytic air cleaners and materials technologies - Abilities and limitations," *Build. Environ.*, vol. 91, pp. 191–203, 2015.
- [18] W. A. Jacoby, P. C. Maness, E. J. Wolfrum, D. M. Blake, and J. A. Fennell, "Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 17, pp. 2650–2653, 1998.
- [19] P. Chuaybamroong, R. Chotigawin, S. Supothina, P. Sribenjalux, S. Larpiattaworn, and C. Y. Wu, "Efficacy of photocatalytic HEPA filter on microorganism removal," *Indoor Air*, vol. 20, no. 3, pp. 246–254, 2010.
- [20] C. Rodrigues-Silva *et al.*, "Bacteria and fungi inactivation by photocatalysis under UVA irradiation: liquid and gas phase," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 7, pp. 6372–6381, 2017.
- [21] S. Pigeot-Remy *et al.*, "Inactivation of *Aspergillus niger* spores from indoor air by photocatalytic filters," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 134–135, pp. 167–173, 2013.
- [31] J. O. Saucedo and S. Arriaga, "Estudio de la degradación de vapores de n-Hexeno mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocátalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2015.
- [32] N. Goyer, J. Lavoie, L. Lazure, and G. Marchand, *Bioaerosols in the workplace: Evaluations, Control and Prevention Guide*. Montréal (Québec): IRSST - Direction des communications, 2001.
- [33] J. Mandal and H. Brandl, "Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations," *Open Environ. Biol. Monit. J.*, vol. 41, no. 1, pp. 83–96, 2011.
- [38] P. Blais-Lecours, P. Perrott, and C. Duchaine, "Non-culturable bioaerosols in indoor settings: Impact on health and molecular approaches for detection," *Atmos. Environ.*, vol. 110, pp. 45–53, 2015.
- [47] P. S. Chen and C. S. Li, "Sampling performance for bioaerosols by flow cytometry with fluorochrome," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 39, no. 3, pp. 231–237, 2005.
- [49] C. Y. Lin and C. S. Li, "Effectiveness of titanium dioxide photocatalyst filters for controlling bioaerosols," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 170, no. October, pp. 162–170, 2003.

- [50] Y. Boyjoo, H. Sun, J. Liu, V. K. Pareek, and S. Wang, "A review on photocatalysis for air treatment : From catalyst development to reactor design," *Chem. Eng. J.*, vol. 310, pp. 537–559, 2017.
- [56] A. Hernández, "NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización." [Online]. Available: http://www.jmcprl.net/NTPs/@Datos/ntp_313.htm. [Accessed: 11-Jan-2017].
- [61] B. Sánchez *et al.*, "Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions," *Chemosphere*, vol. 87, no. 6, pp. 625–630, 2012.
- [66] C. Lin, C. Li, C. Lin, and C. Li, "Control Effectiveness of Ultraviolet Germicidal Irradiation on Bioaerosols," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 6826, no. July, pp. 474–478, 2010.
- [67] E. Kujundzic, M. Hernandez, and S. L. Miller, "Ultraviolet germicidal irradiation inactivation of airborne fungal spores and bacteria in upper-room air and HVAC in-duct configurations," vol. 9, no. May, pp. 1–9, 2007.
- [70] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, and Y. Chen, "Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered," no. 6, pp. 5164–5173, 2012.
- [72] B. Wu *et al.*, "Comparative eco-toxicities of nano-ZnO particles under aquatic and aerosol exposure modes," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 4, pp. 1484–1489, 2010.
- [73] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 7, pp. 2325–2331, 2011.
- [74] Y. W. Baek and Y. J. An, "Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*," *Sci. Total Environ.*, vol. 409, no. 8, pp. 1603–1608, 2011.
- [75] V. K. Yemmireddy and Y.-C. Hung, "Using Photocatalyst Metal Oxides as Antimicrobial Surface Coatings to Ensure Food Safety-Opportunities and Challenges," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 16, pp. 617–631, 2017.
- [79] O. Akhavan, R. Azimirad, S. Safa, and E. Hasani, "CuO/Cu(OH)₂ hierarchical nanostructures as bactericidal photocatalysts," *J. Mater. Chem.*, vol. 21, no. 26, p. 9634, 2011.
- [87] J. O. Saucedo-Lucero and S. Arriaga, "Photocatalytic oxidation process used as a pretreatment to improve hexane vapors biofiltration," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 90, no. 5, pp. 907–914, 2015.
- [88] S. N. Hosseini, S. M. Borghei, M. Vossoughi, and N. Taghavinia, "Immobilization of TiO₂ on perlite granules for photocatalytic degradation of phenol," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 74, no. 1–2, pp. 53–62, 2007.
- [89] K. S. W. Sing *et al.*, "International Union of Pure and Applied Chemistry, Including Catalysis-Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity," *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 603–619, 1985.

- [90] M. Hinojosa, S. Arriaga, and V. Rodríguez, “Estudio de un sistema híbrido de degradación de etilbenceno: oxidación avanzada UV / TiO acoplada a un biofiltro,” Instituto Potosino de Investigación científica y Tecnológica, A.C., 2011.
- [92] L. M. Vanhee, H. J. Nelis, and T. Coenye, “Rapid detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* in environmental air samples using solid-phase cytometry,” *Env. Sci Technol*, vol. 43, no. 9, pp. 3233–3239, 2009.
- [108] K. Yang, L. Li, W. Ding, and S. Xue, “A full-scale thermophilic biofilter in the treatment of sludge drying exhaust: performance , microbial characteristics and bioaerosol emission,” *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 0, no. December 2017, 2018.
- [110] P.-S. Chen and C.-S. Li, “Real-time monitoring for bioaerosols—flow cytometry,” *Analyst*, vol. 132, no. 1, pp. 14–16, 2007.
- [111] R. Sathyamoorthy and K. Mageshwari, “Synthesis of hierarchical CuO microspheres: Photocatalytic and antibacterial activities,” *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures*, vol. 47, pp. 157–161, 2013.
- [112] K. Mageshwari and R. Sathyamoorthy, “Flower-shaped CuO Nanostructures: Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity,” *J. Mater. Sci. Technol.*, vol. 29, no. 10, pp. 909–914, 2013.
- [113] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, “Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 7, pp. 2325–2331, 2011.
- [114] G. Madhumitha, G. Elango, and S. M. Roopan, “Biotechnological aspects of ZnO nanoparticles: overview on synthesis and its applications,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 2, pp. 571–581, 2016.
- [115] Z. Wang *et al.*, “Anti-microbial activities of aerosolized transition metal oxide nanoparticles,” *Chemosphere*, vol. 80, no. 5, pp. 525–529, 2010.
- [116] S. R. Lingampalli, M. M. Ayyub, and C. N. R. Rao, “Recent Progress in the Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide,” *ACS Omega*, vol. 2, no. 6, pp. 2740–2748, 2017.
- [117] Y. Xia, J. Wang, R. Chen, D. Zhou, and L. Xiang, “A Review on the Fabrication of Hierarchical ZnO Nanostructures for Photocatalysis Application,” *Crystals*, vol. 6, no. 11, p. 148, 2016.
- [118] V. Prigione, G. Lingua, and V. F. Marchisio, “Development and Use of Flow Cytometry for Detection of Airborne Fungi,” *Society*, vol. 70, no. 3, pp. 1360–1365, 2004.
- [119] BD Biosciences, “Live and Dead Cell Discrimination BD™ Cell Viability Kit,” 2015.
- [120] BD Biosciences, R. Alsharif, M. Tapia, W. Godfrey, J. Wannlund, and M. Nagar, “Bacterial Disinfectant Efficacy Using Flow Cytometry,” 2001.
- [121] BD Biosciences, “BBL™ Calcofluor White Reagent Droppers,” 2016.
- [122] Universidad de Vigo. Facultad de Biología, “Técnicas Histológicas. 2- Fijación. Fijadores. Atlas de Histología Vegetal y Animal,” *Atlas de Histología Vegeta y Animal*, 2018. [Online]. Available: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/2-fijadores.php>. [Accessed: 22-Jun-2018].

- [123] S. Verdín *et al.*, *Histología e Inmunohistoquímica. Manual de Métodos*. 2013.
- [124] R. J. Watts, S. Kong, M. P. Orr, G. C. Miller, and B. E. Henry, "Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent," *Water Res.*, vol. 29, no. 1, pp. 95–100, 1995.

CAPITULO VI: INACTIVACIÓN DE BIOAEROSOLES EN UN PROCESO CONTINUO CON ZnO Y TiO₂ IMPREGNADOS SOBRE PORAVER

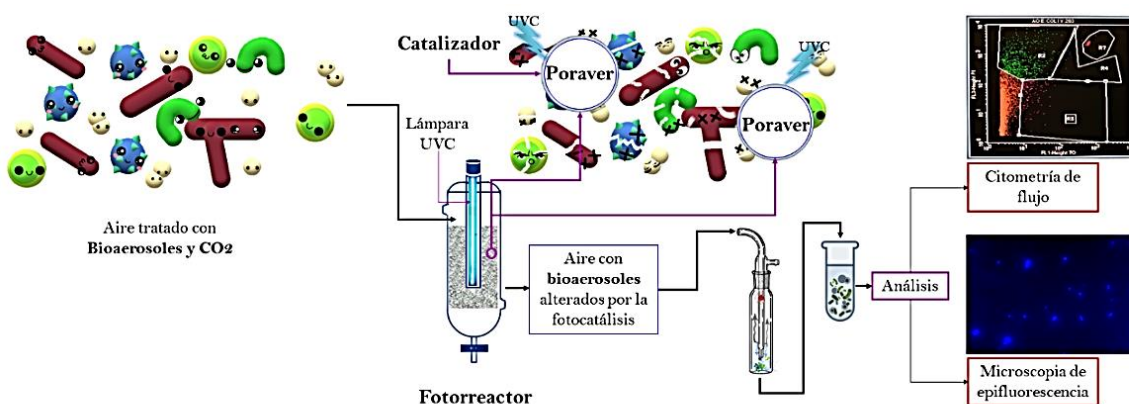
RESUMEN

El tratamiento de bioaerosoles es un tema de alto interés debido a los múltiples daños y complicaciones a la salud que pueden presentarse ya que pueden ser patógenos por las diversas enfermedades infecciosas (gripa, influenza o tuberculosis), respiratorias (asma, rinitis, conjuntivitis o pneumonías hipersensitivas), pulmonares obstructivas crónicas y cáncer. La Organización Mundial de la Salud (WHO) ha reportado como Valor Límite de Exposición (ELV) 300 UFC/m³. Se han desarrollado diversas tecnologías de control o eliminación de bioaerosoles en aire de interiores. Dentro de estas podemos encontrar procesos físicos, térmicos y químicos dentro de los cuales destacan los procesos de oxidación avanzada como la fotocatalisis.

El objetivo de esta investigación fue desarrollar un proceso continuo para la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles reales emitidos por un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo con ZnO y TiO₂ inmovilizados en poraver. Los sistemas fotocatalíticos fueron conectados a la salida del biofiltro, desempeñándose como un proceso de post-tratamiento de bioaerosoles.

Los resultados mostraron que el sistema fotocatalítico más eficiente fue el de TiO₂/Poraver con un 77% de inactivación de bioaerosoles durante las primeras 2 horas del proceso, mientras que con el sistema ZnO/Poraver no se detectó la inactivación de bioaerosoles. Además, se determinó el tiempo de vida media para ZnO y TiO₂, los cuales fueron de 0 horas y 3.5 horas respectivamente. Los bioaerosoles emitidos por el biofiltro y el fotorreactor están compuestos de 94 – 99.71 % de bacterias y levaduras y de 0.29 – 6 % de esporas fúngicas.

Palabras clave: Biofiltración, emisión de bioaerosoles, fotocatalisis en flujo continuo, citometría de flujo, microscopia de epifluorescencia.



Resumen gráfico del capítulo VI

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente existe una creciente preocupación con respecto a la calidad del aire y los niveles de exposición de los diferentes contaminantes a los que estamos expuestos los seres vivos tanto en espacios exteriores como en interiores. Los contaminantes suspendidos en el aire de interior pueden afectar la salud de los ocupantes de los edificios. Para la mayoría de estos contaminantes la STPS y EPA ha establecido concentraciones límite permisibles en jornadas de trabajo debido a que tienen un efecto en la salud y en el desempeño laboral de trabajadores. Lo anterior debido a que los ocupantes de edificios permanecen más del 85% de su tiempo en interiores [125]. Se han relacionado diversas enfermedades a la presencia de bioaerosoles que son considerados como contaminantes de interiores [6].

Los bioaerosoles son partículas, de origen biológico, suspendidas en el aire. Consisten de bacterias, hongos, virus, partículas de peso molecular alto, alergénicos, endotoxinas, micotoxias, peptidoglicanos, $\beta(1\rightarrow3)$ -glucanos, polen y fibras de planta patógenas o no patógenas, vivas o muertas [6], [33]. Así, la mayoría de los bioaerosoles se encuentra en un tamaño respirable y debido a su ligero peso, los bioaerosoles suspendidos en el aire son fácilmente transportados, transferidos y desplazados de un ambiente a otro con facilidad [32], [33].

Los bioaerosoles son ubicuos en nuestro ambiente, pero existen factores que provocan la acumulación y proliferación de bioaerosoles como la humedad, temperatura, incidencia de luz, presencia de humanos, plantas, animales o desarrollo de procesos biológicos [33], [37] como la biofiltración, biorreactores con membranas y biolavadores que han sido desarrollados para tratar compuestos orgánico volátiles, H_2S , NH_3 , NO_x , y otros gases de efecto invernadero y que degradan la calidad del aire de interiores [105]. Sin embargo, se ha reportado que dichos procesos biológicos emiten de 80 a 10^5 UFC/ m^3 de bioaerosoles alterando la calidad del aire [1], [2], [31], [108]. Los estudios reportados se han desarrollado con métodos de cultivo dependiente, así como la mayoría de los estudios de bioaerosoles en aire de interior y se sabe que dichos métodos subestiman la concentración real de bioaerosoles ya que solo el 10% de los microorganismos suspendidos en el aire son cultivables. Además, los métodos están limitados por las condiciones ambientales y medios de cultivo específicos [1]–[3]. Existen métodos de cultivo independiente como la citometría de flujo que representa una alternativa a los métodos de cultivo dependiente ya que cuantifica el total de células y metabolitos muestreados por medio de tinciones con fluorocromos que se unen a componentes celulares específicos por lo que permite la caracterización de las células vivas, muertas o dañadas [33], [47], [110].

Los riesgos a la salud provocados por los bioaerosoles aparecen cuando las concentraciones de algunas especies son altas ($10^2 - 10^4$ UFC/ m^3 y 100

esporas/m³) tales como las que han presentado las bacterias filamentosas, bacterias entéricas y hongos [7], [32]. Se pueden identificar tres grupos principales de enfermedades asociadas a la exposición de bioaerosoles: enfermedades infecciosas, enfermedades respiratorias y cáncer. Las enfermedades infecciosas (gripa, influenza y tuberculosis) y respiratorias (asma, rinitis, conjuntivitis, pneumonías) son las más comunes, sin embargo, también se han descrito casos de abortos y efectos inmunológicos hormonales en mujeres expuestas a micotoxinas [6], [38], [56].

Por lo anterior, la Organización Mundial de la Salud (WHO) ha establecido que el valor límite de exposición (ELV) de bioaerosoles en aire ambiente debe ser menor a las 300 UFC/m³. Sin embargo, las respuestas de los seres humanos a los diferentes microorganismos y fragmentos de los mismos suspendidos en el aire varían desde efectos inocuos hasta enfermedades graves, dependiendo del agente específico y de los factores de susceptibilidad de cada persona.

Debido a esto, se han desarrollado diferentes procesos para prevenir, reducir y controlar las fuentes de contaminación con bioaerosoles en espacios de interiores. Dentro de estas tecnologías destacan los procesos de oxidación avanzada como la fotocatalisis para inactivar a los bioaerosoles [125], [14].

El tratamiento de bioaerosoles a través del proceso de fotocatalisis se logra mediante la interacción entre un catalizador y la luz ultravioleta (UV) para producir los radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), los cuales son altamente reactivos y son consideradas las especies oxidantes dominantes que contribuyen a la mineralización de los bioaerosoles [4], [17] mediante el rompimiento de la membrana celular, causando la oxidación de las proteínas (desnaturalización) y al daño al ADN [70].

Así, los sistemas fotocatalíticos presentan ventajas sobre otros métodos de control de bioaerosoles como la rápida eliminación de los mismos y la inactivación de microorganismos permanente. Sin embargo, es necesario estudiar este tipo de procesos con catalizadores que mantengan un mayor tiempo de vida media ya que una de las principales limitaciones de estas técnicas es la desactivación del catalizador [4]. Además, la mayoría de los estudios se han realizado para la inactivación de bioaerosoles sintéticos en procesos en lote y algunos estudios en modo continuo [5], [18]–[20]. Los bioaerosoles sintéticos son aquellos que son cultivos prefabricados de bacterias u hongos con especies conocidas, así como su concentración de nebulización para sus estudios y se ha estudiado el efecto antimicrobiano del TiO_2 y ZnO en procesos fotocatalíticos en lote desarrollados en agua para la inactivación del 100% de células de *E. coli* (concentración inicial de 1×10^7 UFC/mL) donde se demostró que se producen 3 tipos de especies reactivas oxidantes: radical superóxido (O_2^-), radical hidroxilo (OH^\cdot) y oxígeno (O_2) que atacan las membranas celulares además de la liberación de iones de Zn^{2+} que dañan a las células [70].

Rodrigues y col. (2017) [20] desarrollaron un sistema en lote para demostrar la capacidad de inactivación fotocatalítica con TiO_2 y ZnO en agua para las bacterias *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus* y *S. saprophyticus*, *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium spp.* Obtuvieron hasta un 100% de inactivación de las bacterias y en un proceso en continuo en fase gaseosa evaluaron la capacidad de inactivar las bacterias (concentración inicial de 10^6 UFC/mL) y *Aspergillus fumigatus* (concentración inicial de 10^4 UFC/mL) con TiO_2 obteniendo una inactivación del 90% y 80% para bacterias y el hongo, respectivamente. Las concentraciones usadas por Rodrigues y col. [20] son al menos un orden de magnitud inferior a las que se han encontrado en el aire ambiente por medio de métodos de cultivo independiente [3]

Otro de los problemas más importantes de los sistemas fotocatalíticos radica en la pérdida de los semiconductores cuando se usan para tratar flujos de aire en modo continuo debido a su bajo tamaño (2 – 50 nm) [4], [114], [115]. Se ha demostrado que los catalizadores se liberan al medio de evaluación debido a la baja estabilidad del soporte [16], los enlaces químicos débiles entre el soporte y el catalizador [88] y fenómenos de abrasión que puedan ocurrir en el sistema como lo evaluó Meichtry y col. (2007) [126].

Meichtry y col. (2007) [126] probaron diferentes materiales de soporte como cerámica, placas de vidrio, anillos de vidrio y botellas de plástico PET que fueron impregnadas con soluciones al 2% (P/V) de TiO_2 (-25 Degussa) para el tratamiento fotocatalítico de agua para consumo humano. Determinaron que el soporte con mayor grado de impregnación fue la cerámica con 2.10 mg TiO_2 /g soporte, seguido de las placas de vidrio y los anillos de vidrio con 1.24 mg TiO_2 /g soporte y 1.01 mg TiO_2 /g soporte, respectivamente. Finalmente, obtuvieron un grado de impregnación de 0.18 – 0.21 mg TiO_2 /g soporte en las botellas PET. Aunque la eficiencia fotocatalítica de las nanopartículas (NPs) de TiO_2 disminuyó debido a que se redujo el área superficial específica y aumentaron las limitaciones de transferencia de masa, los materiales cerámicos evaluados tuvieron una velocidad de reacción y eficiencia de degradación, de una solución 0.2 mM de 4-chlorophenol (4-CP), similar a la de las NPs suspendidas con una cinética de orden cero en un tiempo de 120 min para ambos casos. La eficiencia de degradación del 4-CP fue de 75% y 100% con TiO_2 /cerámica y NPs suspendidas, respectivamente. Por lo tanto, la impregnación de los semiconductores en materiales como polímeros, fibra de vidrio, filtros de celulosa, perlita, placas de vidrio de cuarzo y otros es una alternativa viable para evitar la pérdida de catalizadores [18]–[20], [61], [101].

Chuaybamroong y col. (2010) impregnaron NPs de P25-Degussa (TiO_2) en filtros HEPA para la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles sintéticos compuestos de *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Bacillus subtilis* con un flujo de 1440 L/min donde se alcanzó una inactivación de 60% para hongos y 80% para bacterias [19]. Así mismo, Sánchez y col. (2012) [61] estudiaron la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles reales con TiO_2 , impregnado en

Tereftalato de polietileno (PET), y a un flujo de 180 L/min de un laboratorio de 42 m² ocupado por cinco personas, encontrando una eficiencia de inactivación para bacterias de hasta 76% y sin inactivación significativa para hongos [61], sin embargo, subestimaron la cantidad y diversidad de bioaerosoles ya que la cuantificación y caracterización de los bioaerosoles fue hecha por métodos de cultivo dependiente.

En la presente investigación se ha logrado establecer los parámetros operacionales en continuo para la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles emitidos por un biofiltro -en estado estable- que trata vapores de acetato de etilo a una carga constante de 60 g/m³/h y una eficiencia de remoción de 100%. Los catalizadores empleados para la fotocatalisis fueron el ZnO y el TiO₂ impregnados en poraver y fotoactivados a 254 nm. La técnica de citometría de flujo se desarrolló para cuantificar y caracterizar las células vivas, muertas y dañadas de las muestras de bioaerosoles obtenidas. De acuerdo a nuestro conocimiento, ningún otro estudio ha reportado este proceso en la literatura. Además, se usó la microscopia de epifluorescencia para cuantificar la concentración total de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Caracterización e impregnación de catalizadores

En la Tabla 9 se muestran los resultados resumidos de la caracterización de las nanopartículas con las diferentes técnicas descritas en la metodología.

Mediante los análisis de XRD y el software *EVA* se determinaron las fases cristalinas para ambas nanopartículas, donde se obtuvo que la nanopartícula ZnO está compuesta 100% de la fase cristalográfica Zincita-Wurzita [90], [114] y el TiO₂ estaba compuesto de 87.65% de la fase cristalográfica Anatasa y de 12.35% de la fase cristalográfica Rutilo [90]. Además, con los análisis en RAMAN se comprobó la presencia de dichas fases cristalográficas por los modos vibracionales obtenidos. Ambas fases dominantes en los catalizadores hacen propicio desarrollar los procesos fotocatalíticos [90], [114].

En la Tabla 9 se muestra la *A_{BET}* obtenida para ambos catalizadores de 38.2 m²/g y 53.3 m²/g para ZnO y TiO₂, respectivamente. Además, se determinó que ambos catalizadores tienen una isoterma tipo IV que es representativa de sólidos mesoporosos dominados por una fisisorción en multicapas [89]. Se obtuvieron lazos de histéresis tipo H₃ para ambos catalizadores y esto indica que los sólidos forman aglomeraciones [89] como se puede notar en las Figuras 40 y 41.

La morfología del ZnO se muestra en la Figura 40. Se determinó que el ZnO tiene una forma hexagonal característica del zinc [31], además, se observó un empaquetamiento de cristales. En la Figura 41 se muestran los cristales de TiO₂ cúbicos y aglomerados.

Tabla 9. Resultados de la caracterización de las nanopartículas

Técnica	ZnO	TiO ₂
Microscopía electrónica de barrido	Se observó un empaquetamiento de cristales y una impregnación homogénea sobre el poraver.	Se observaron cristales cúbicos aglomerados y una impregnación homogénea sobre el poraver.
Fisorción con Nitrógeno	A _{BET} : 38.2417 m ² /g	A _{BET} : 53.3070 m ² /g
	Isoterma: IV – sólidos mesoporosos con fisorción por multicapas	
	Histéresis: H ₃ – sólidos que forman aglomeraciones	
Difracción de Rayos X	Tamaño: 28.85 nm Cristal hexagonal Fase cristalina: Zincita-Wurzita	Tamaño: 19.37 nm Cristal Tetragonal Fase cristalina: Anatasa (87.65%) y Rutilo (12.35%)
Espectroscopia RAMAN	Modos vibracionales de Zincita 203, 331, 377, 438 y 1152 cm ⁻¹ (Data base Ruff ID R060027)	Modos vibracionales de Anatasa (TiO ₂): 144, 197, 399, 519 y 639 cm ⁻¹ [90]
Análisis gravimétricos	Grado de Impregnación: 0.050 g _{ZnO} /g _{Poraver}	Grado de Impregnación: 0.041 g _{ZnO} /g _{Poraver}
	Capacidad de retención de agua: 1.51 mL/g	Capacidad de retención de agua: 1.58 mL/g
	Volumen requerido para tener 1 g de catalizador en el fotorreactor: 123.264 mL	Volumen requerido para tener 1 g de catalizador en el fotorreactor: 150.774 mL

En las Figuras 40 y 41 se muestra que la impregnación de los fotocatalizadores es homogénea, aunque no con el mismo grado de impregnación como se indica en la Tabla 9. En la Figura 41 se puede apreciar que el TiO₂ tiene una mejor distribución. Por los análisis elementales EDS (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy) que se hicieron con el equipo FEI QUANTA 250 se determinó que la forma de impregnación no modifica ni la composición de los catalizadores. Además, se ha reportado que la forma de impregnación no modifica las características cristalográficas de los catalizadores [31], [90].

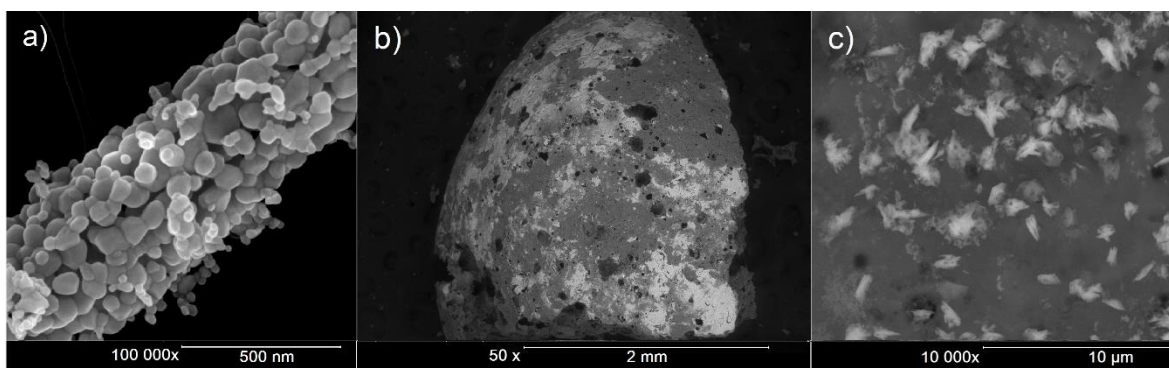


Figura 40. Caracterización morfológica y de distribución sobre poraver del ZnO; a) Nanopartícula ZnO, b) y c) ZnO/Poraver

En la Tabla 9 se muestran los resultados de los análisis gravimétricos, y se puede observar que el grado de impregnación de ZnO/Poraver es 1.21 veces mayor con

respecto al $\text{TiO}_2/\text{Poraver}$. Además, en las micrografías obtenidas mediante la microscopía electrónica de barrido se determinó que el soporte tiene una distribución de poros heterogénea y una escasa porosidad, así como una superficie lisa. Las características físicas del poraver afectan directamente en el grado de impregnación y en el volumen de soporte impregnado que se debe colocar en el fotorreactor.

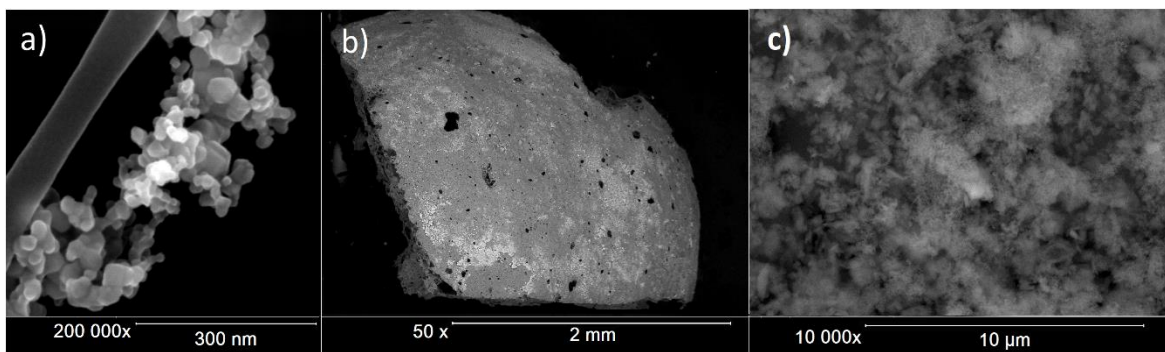


Figura 41. Caracterización morfológica y de distribución sobre poraver del TiO_2 ; a) Nanopartícula TiO_2 , b) y c) $\text{TiO}_2/\text{Poraver}$

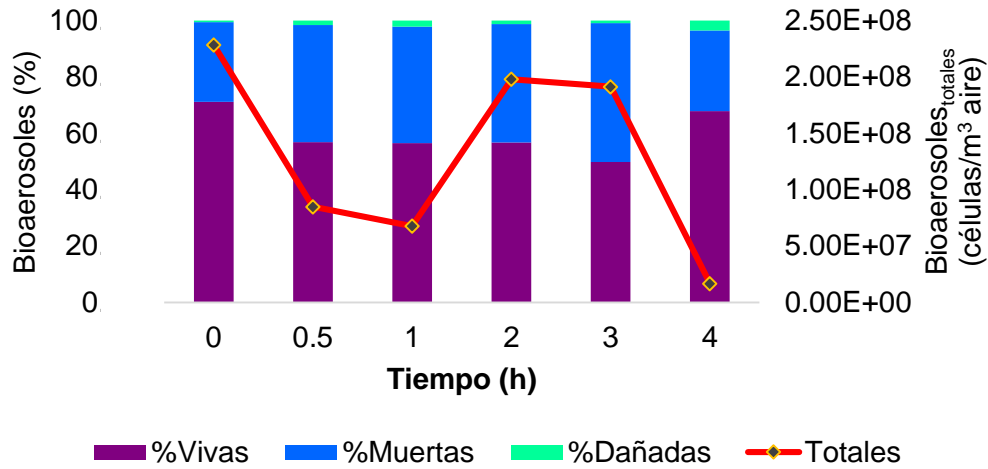
2.2 Desempeño de los reactores

El biofiltro alcanzó y mantuvo un estado estable durante 130 días con una eficiencia de remoción (ER) de 100% de acetato de etilo (EA). Así, la salida del biofiltro estuvo principalmente compuesta de bioaerosoles y de dióxido de carbono producido durante la mineralización del EA, la cual fue superior al 100%.

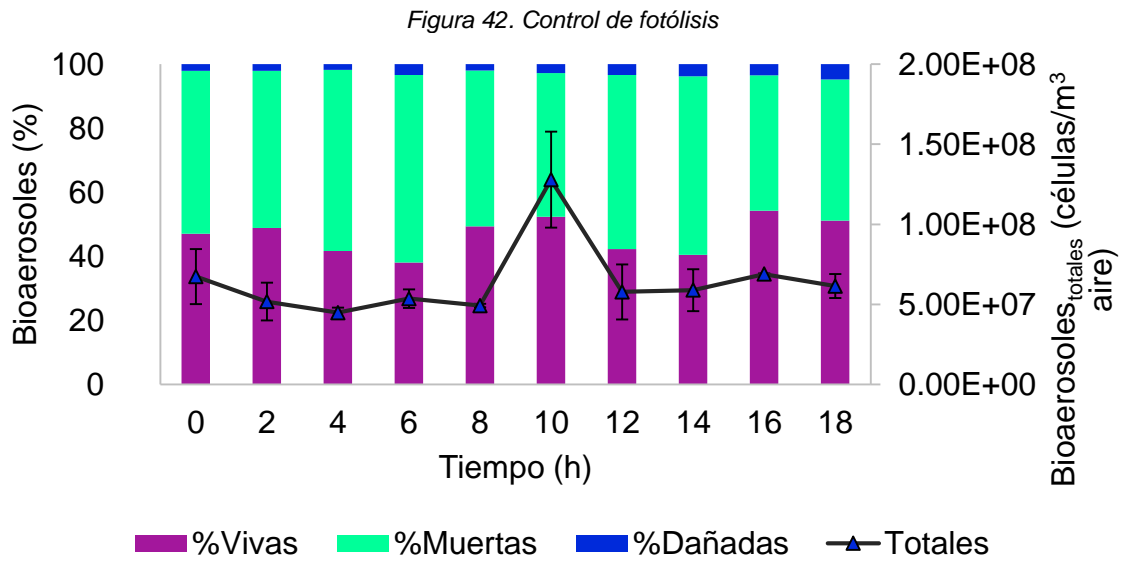
Debido a que se ha reportado que el tiempo de vida media de los catalizadores es un factor limitante [31], se decidió evaluar los sistemas durante 96 h. En las primeras 12 horas se tomaron dos muestras de la salida del fotorreactor cada hora. A partir de las 12 horas se tomó una muestra cada 12 horas hasta completar 96 h de evaluación como se muestra en las Figuras 44 y 45.

2.2.1 Controles fotocatalíticos

Los controles de fotólisis y adsorción se desarrollaron para determinar la contribución de la irradiación UVC (254 nm) y el punto de equilibrio en el que el empaque del fotorreactor alcanzaba la saturación por bioaerosoles [12], [20], [67], es decir, el punto en el que la cantidad de bioaerosoles a la entrada del fotorreactor era la misma que la salida. Las Figuras 42 y 43 muestran el comportamiento de los controles de fotólisis y adsorción, respectivamente, con respecto a la composición de las muestras en cuanto al porcentaje de células vivas, muertas y dañadas. Además, en los gráficos se puede observar una línea sobre las barras que indica la cantidad total de bioaerosoles a través del tiempo. El Tiempo 0 (T_0) corresponde a la entrada de bioaerosoles para cada sistema.



A)



B)

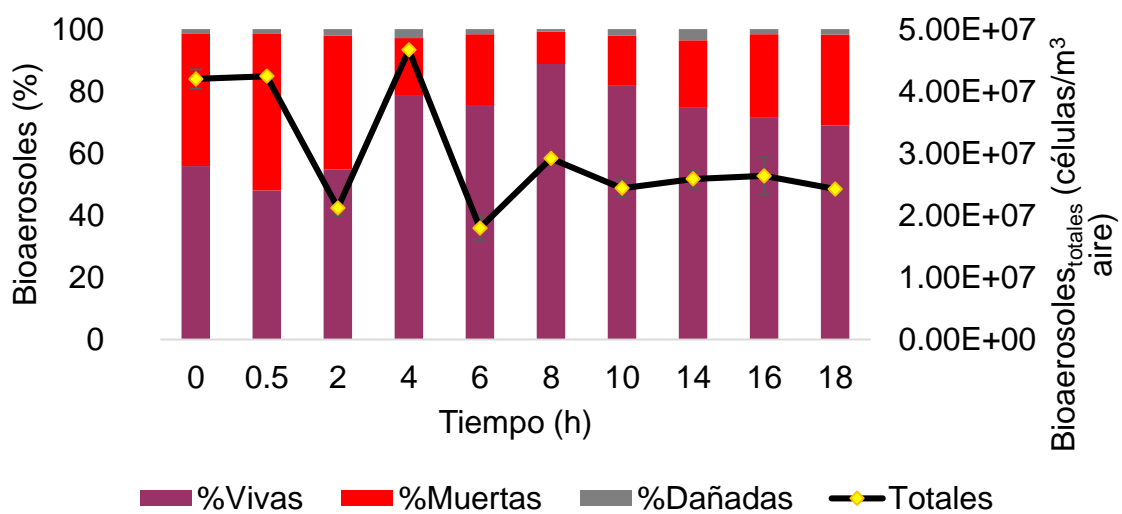


Figura 43. Controles de adsorción; A) ZnO/Poraver y B) TiO₂/Poraver

Un análisis de comparación de medias múltiples Tukey fue desarrollado con el software “Rstudio”. Con el análisis estadístico se determinó que no existe un efecto fotolítico significativo sobre la composición de las muestras de bioaerosoles (valor de $P > 0.05$), lo cual significa que el porcentaje de células vivas o muertas no cambia significativamente con respecto al tiempo debido a que el TRG es muy bajo con respecto a otros estudios [12], [20], [66], [67].

Lo anterior se comprueba ya que se han expuesto diferentes cepas como *Aspergillus versicolor* y *Mycobacterium parafortuitum* con un tiempo de exposición de 14 min y una concentración de 140 UFC/mL [67] así como para *Mycobacterium bovis* con un tiempo de exposición de 100 min y una concentración de 1×10^6 UFC/mL [69]. La Figura 45 muestra la composición de las muestras de bioaerosoles durante el control fotolítico.

Los experimentos control de adsorción indicaron que el equilibrio fue alcanzado a las 14 horas para ambos semiconductores. Esto se muestra con la línea del total de bioaerosoles marcada en la Figura 43A y 43B. Además, se puede observar que no hay un cambio en la composición de las muestras de bioaerosoles, por lo que se determinó con un análisis ANOVA que el contacto de los bioaerosoles tanto con ZnO y TiO₂ no tiene un efecto significativo en la inactivación de bioaerosoles (valor de $P = 0.935$).

2.2.2 Proceso de fotocatalisis

Una vez que el equilibrio de adsorción fue alcanzado, se inició el proceso de fotocatalisis para cada catalizador. Las Figuras 44 y 45 muestran la composición de las muestras a la entrada (T_0 en ambos gráficos) así como las 18 salidas evaluadas a través del tiempo para ambos sistemas fotocatalíticos (ZnO/Poraver y TiO₂/Poraver).

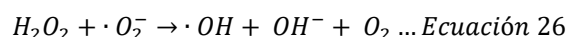
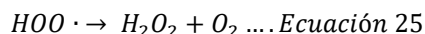
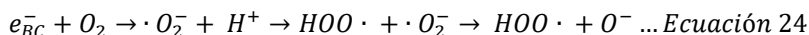
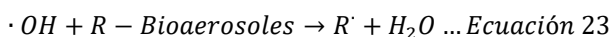
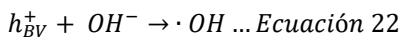
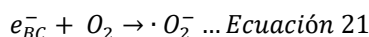
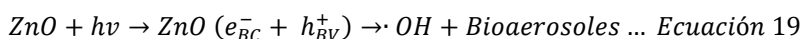
La Figura 44 muestra el rendimiento fotocatalítico que tuvo el sistema ZnO/Poraver, en el cual se puede apreciar que no hubo un efecto de inactivación de los bioaerosoles.

De manera natural, al momento de que el ZnO absorbe los fotones se genera la reacción de oxidación que provoca la producción de un electrón hueco positivo (h_{BV}^+) de la banda de valencia y debido a la migración de un electrón de la banda de valencia (BV) a la banda de conducción (BC), este electrón reduce el oxígeno presente en el medio y produce el radical superóxido ($\cdot O_2^-$) [127], [128].

El h_{BV}^+ reacciona con un grupo funcional hidroxilo (OH⁻) para producir el radical hidroxilo ($\cdot OH$). El radical hidroxilo, que es la especie dominante para la oxidación de los bioaerosoles en aire [17], [118], reacciona con las membranas de los bioaerosoles lo que produce el daño celular. Además, el $\cdot O_2^-$ se protona con los átomos de H⁺, provenientes de las moléculas del agua (Ecuación 24), produciendo el radical hidroperoxil (HOO \cdot) y subsecuentemente el peróxido de hidrógeno (H₂O₂)

y O_2 (Ecuación 26). El H_2O_2 y el $\cdot O_2^-$ reaccionan para formar otro $\cdot OH$, OH^- y O_2 [127], [128].

Sin embargo, el poraver tiene una CRA menor a 1.6 mL/g, lo que provocó que no existieran suficientes moléculas de agua en el medio con las cuales el h_{BV}^+ reaccionara con los OH^- sin producir suficientes $\cdot OH$. Ocurre lo mismo con el $\cdot O_2^-$ y la falta de H^+ en el medio. Así, el electrón hueco y el electrón sufrieron una recombinación de carga impidiendo la producción de $\cdot OH$ que inactive a los bioaerosoles. Lo anterior provoca la baja eficiencia de inactivación de bioaerosoles en el sistema ZnO/Poraver aunado a la escasa afinidad o solubilidad del catalizador en agua. Las reacciones se detallan en las ecuaciones [127], [128].



Aunado a lo anterior, se sabe que el CO_2 es poco soluble en agua [17], [116] lo que puede promover las reacciones de competencia en la reducción del CO_2 en la superficie del catalizador y provocar la desactivación del ZnO por la deposición de especies reducidas del CO_2 debido a su baja capacidad de retención de agua ya que se ha demostrado que se tiene una selectividad 3 – 4 veces mayor en reducir el CO_2 en comparación con el H_2O en fase gaseosa [116].

Pese a que la corriente gaseosa que llega al fotorreactor estuvo compuesta de bioaerosoles y CO_2 , la superficie lisa y la escasa porosidad del poraver tiene un efecto negativo en la fotocatalisis debido a que disminuye el área superficial disponible para que ocurran las reacciones para la producción de radicales hidroxilo ($\cdot OH$) y por consecuencia la inactivación de bioaerosoles. Además, la capacidad de retención de agua en el sistema ZnO/Poraver es 1.04 menor con respecto al sistema TiO_2 /Poraver, lo que puede provocar una ineficiencia en la inactivación de bioaerosoles ya que no se tienen las moléculas de H_2O disponibles como precursores de la producción de los $\cdot OH$ como se ha reportado en sistemas fotocatalíticos en fase acuosa y gaseosa con ZnO [20], [72], [81].

Por otro lado, en la Figura 45 se puede apreciar el rendimiento en la inactivación de bioaerosoles en el sistema TiO_2 /Poraver, en el cual se puede observar que el catalizador se mantuvo activo hasta las primeras 3.5 horas del proceso. Se obtuvo

una eficiencia de inactivación máxima de 77.8 % en la hora 2 del proceso y una eficiencia mínima promedio de 28 ± 10.4 % en las horas 1, 2.5 y 3.5.

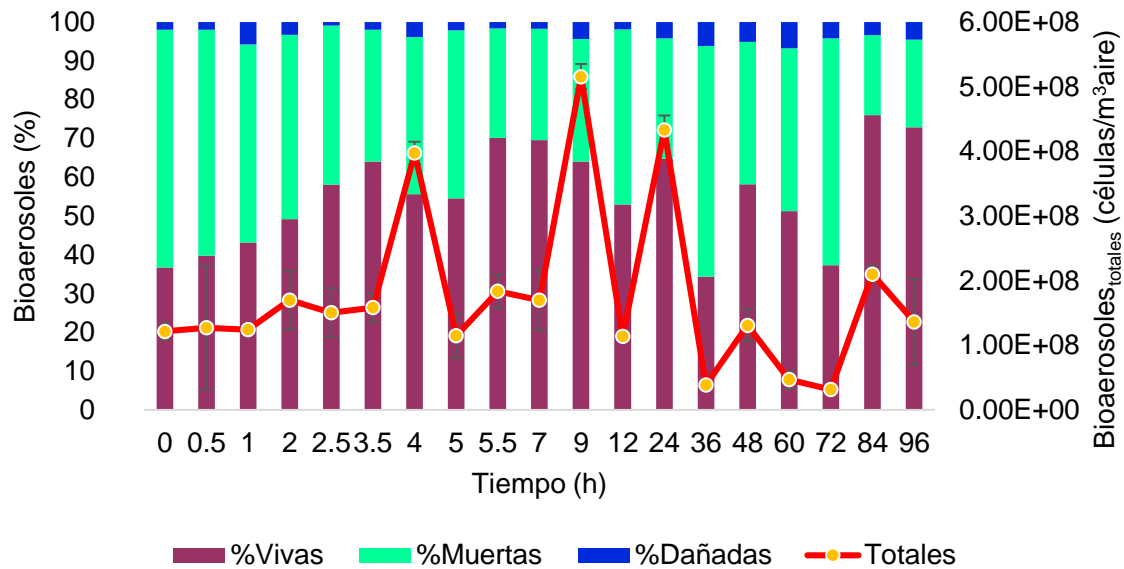


Figura 44. Proceso fotocatalítico ZnO/Poraver

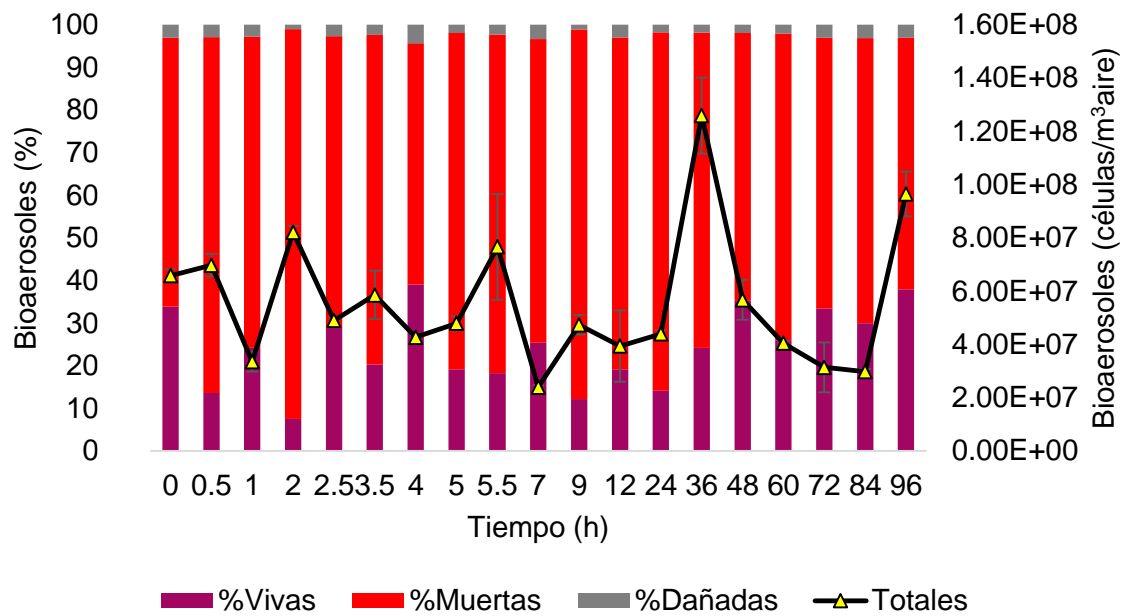


Figura 45. Proceso fotocatalítico TiO₂/Poraver

A partir de la hora 4 del proceso se puede detectar una inactivación del catalizador debido a una saturación de los productos de lisis celular (exopolisacáridos) por la degradación de los bioaerosoles. Lo anterior se puede comprobar con las micrografías mostradas en la Figura 51 de las muestras de soporte fijadas con GHT para el sistema TiO₂/Poraver donde se puede apreciar que no se detectan los

bioaerosoles como en las micrografías en la Figura 50, que muestran las micrografías de los bioaerosoles retenidos en ZnO/Poraver.

La desactivación de los catalizadores también se asocia directamente con la saturación de su superficie con las moléculas del vapor de agua, así como los productos de degradación de los bioaerosoles que propician el envenenamiento y ensuciamiento del catalizador (Figura 46) como lo observado en el estudio de Saucedo y col. (2015) [118] donde evaluaron la transferencia de masa de moléculas de hexano de la fase gaseosa a la fase acuosa que rodea los catalizadores. Además, reportaron el envenenamiento de ZnO por subproductos de la degradación de hexano y con ello la inactivación del catalizador. Se ha reportado que el TiO₂ es altamente hidrofílico y se sobresatura fácilmente de moléculas de H₂O lo que pudo contribuir a su desactivación y así afectar el rendimiento en la producción de radicales hidroxilo [17], [117].

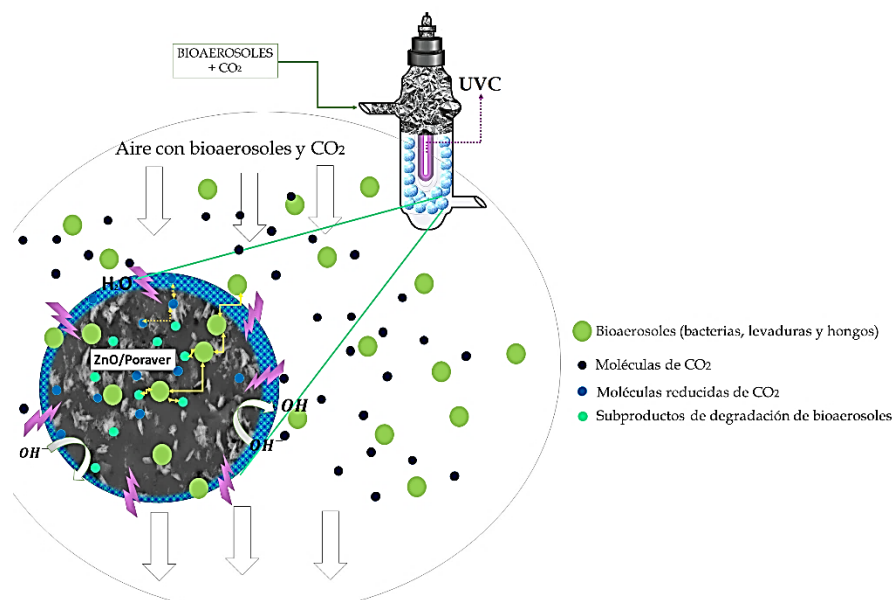


Figura 46. Transferencia de bioaerosoles y CO₂ a través de la fase gaseosa y la fase acuosa en el sistema fotocatalítico ZnO/Poraver (imagen modificada y adaptada de Saucedo y col. 2015) [31].

Se usó el Calcofluor-White para teñir y cuantificar el total de hongos que emitió el biofiltro ya que se une a los polisacáridos de la pared celular (1 – 3) y (1 – 4) – β – D – Glucano (Celulosa y Quitina, respectivamente) [92], [121]. Estos polisacáridos son las especies químicas dominantes de las paredes celulares de las esporas fúngicas [92], que una vez teñidas con el Calcofluor-White presentan fluorescencia cuando se irradian con una longitud de onda cercana a la región UVA y una corta longitud de onda del espectro visible (375 – 470 nm) [92], [121].

Sin embargo, el Calcofluor-White no es selectivo entre esporas fúngicas viables y no viables [3], [92], por tal razón, no fue posible calcular una eficiencia de inactivación fotocatalítica fúngica real. La cuantificación de esporas fúngicas no se incluye en la composición de las muestras de bioaerosoles mostradas en las Figuras

44 y 45 ni en el balance global de bioaerosoles (Tabla 10). Sin embargo, en la Figura 47 y 48 se muestra la concentración total de esporas fúngicas cuantificadas en las muestras de entrada (T_0) y las muestras de salida de los sistemas fotocatalíticos con mayor eficiencia de inactivación, descritos anteriormente.

Así, la concentración total de esporas fúngicas durante la evaluación del sistema fotocatalítico ZnO/Poraver se muestra en la Figura 47 y se puede observar que las muestras de bioaerosoles colectadas están compuestas de 94 – 99 % de bacterias y levaduras y de 1 – 6% de esporas fúngicas. Además, se determinó un promedio de disminución en la concentración de esporas fúngicas a la salida, durante la primera hora del proceso, de 57.3 ± 0.01 % con respecto a la concentración de esporas fúngicas en la entrada (T_0). Posteriormente se detectó un desprendimiento de esporas fúngicas ya que la concentración en la salida del fotorreactor a la hora 2 del proceso fue de 149 % más con respecto a T_0 . Después de esta hora de desorción la concentración de bioaerosoles se mantiene estable. Lo anterior se puede comprobar con las micrografías mostradas en la Figura 50 (B y C) donde se muestra una dispersión homogénea de bioaerosoles en el soporte.

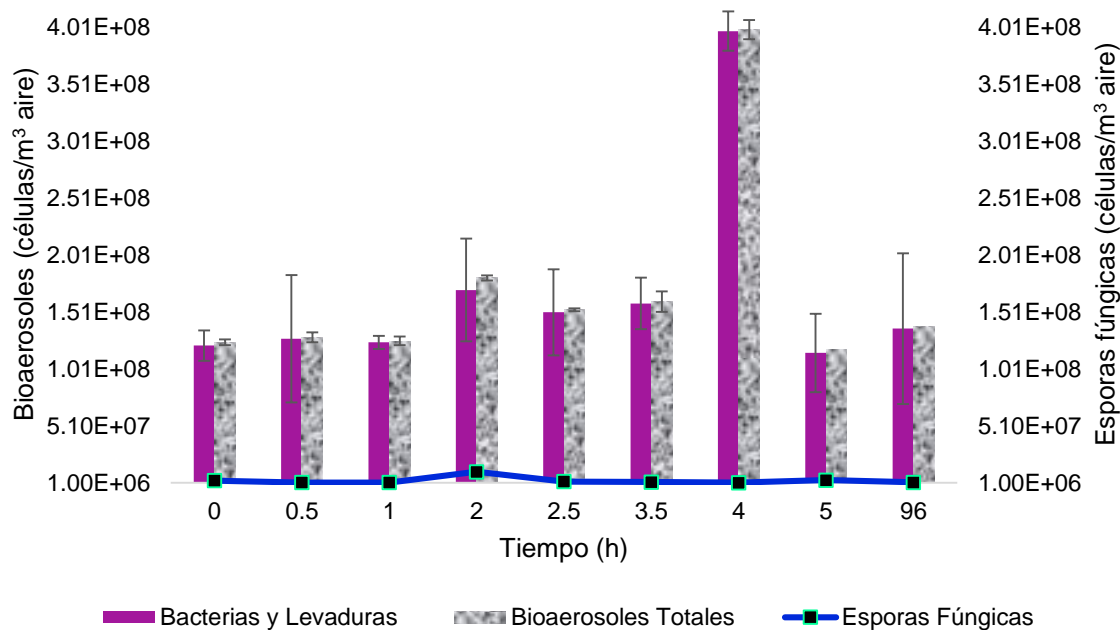


Figura 47. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema ZnO/poraver

Por otro lado, en la Figura 48 se puede observar la concentración total de esporas fúngicas durante la evaluación del sistema fotocatalítico TiO₂/Poraver donde las muestras de bioaerosoles colectadas están compuestas de 97.2 – 99.7 % de bacterias y levaduras y de 0.3 – 2.8 % de esporas fúngicas con una disminución máxima de 72.8 ± 0.04 % en la primera media hora de operación del sistema. Posterior a la hora de operación, la concentración a la salida del fotorreactor de esporas fúngicas se mantiene estable con respecto a T_0 .

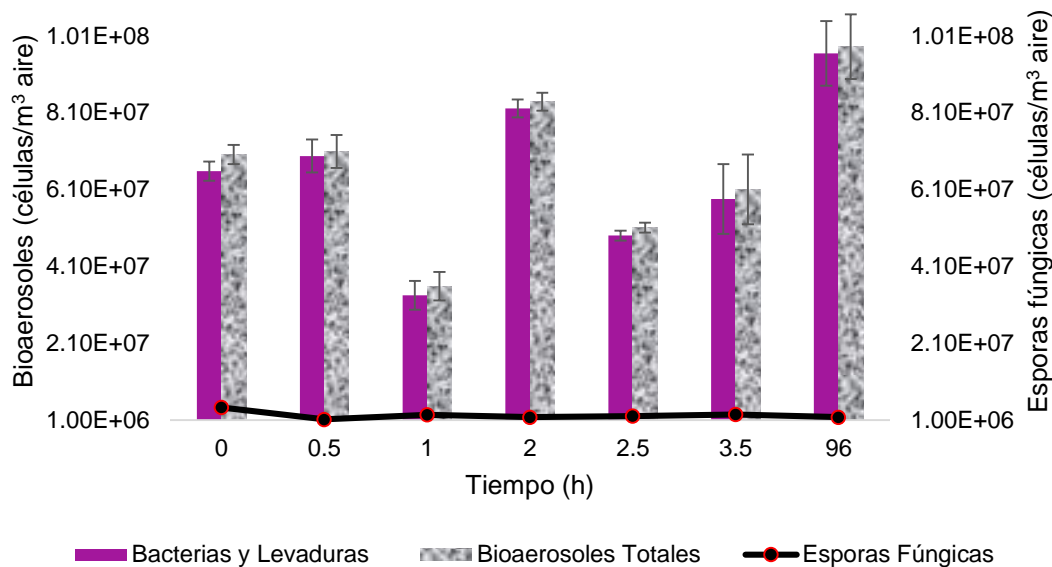


Figura 48. Concentración de esporas fúngicas emitidas por el biofiltro acoplado al sistema TiO_2 /Poraver.

Como se mencionó anteriormente, se obtuvieron micrografías de las muestras de soporte fijadas con GHT para el soporte sin impregnación (control) y con impregnación del catalizador (TiO_2 o ZnO). La micrografía de la muestra control sin impregnación se puede observar en la Figura 49 y se puede notar (en círculos de color azul) el desarrollo de biopelícula por parte de los bioaerosoles. Debido a que el soporte tiene una textura lisa y cuenta con una porosidad irregular y baja [93] la biopelícula se pudo observar en las cavidades del soporte.

En la Figura 50 (A, B y C) se muestra a los bioaerosoles como semi-esferas con un tamaño, determinado con el equipo SEM QUANTA 250, dentro del rango de 4.2 – 15.4 μm . El ZnO cubrió la superficie lisa del poraver con una forma de “espuma o nieve”. Se puede observar en las micrografías que el ZnO inhibe la formación de una biopelícula de las células de bioaerosoles debido a la citotoxicidad que causan los iones de Zn^{2+} [74], [115]. En la Figura 50A, se muestra una micrografía obtenida después del proceso de adsorción, se puede observar una gran cantidad de células y en la Figura 52B, se puede ver la micrografía obtenida después del proceso de fotocatalisis, se puede observar una disminución significativa en la cantidad de bioaerosoles.

En la Figura 50C se marcan dentro de un círculo naranja las células que fueron modificadas debido a la presencia de los iones de zinc. Lo anterior se determinó ya que se hicieron análisis elementales sobre dichas estructuras revelando una composición de elementos pertenecientes de a las células (C, Mg, P, Na y K) que pueden ser los elementos remanentes de los compuestos de lisis celular como los exopolisacáridos [18], [117].

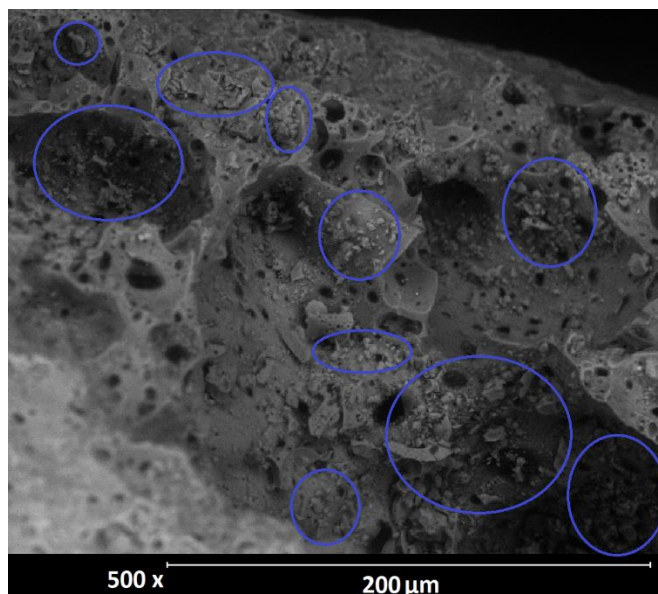


Figura 49. Micrografía de muestra control de poraver sin impregnación de catalizador y fijada con GTH.

Anteriormente se había demostrado la modificación morfológica celular provocada por la interacción de ZnO con *Campylobacter jejuni* donde la bacteria cambio su morfología de bastones a cocos en el estudio realizado por Xie y col. (2011) [73] y en el presente estudio se puede observar una modificación celular provocada por la impregnación de cristales de Zn sobre la célula. Aunado a lo anterior, en la Figura 50C se muestra una delimitación de espacio entre el ZnO y los bioaerosoles. Esta delimitación tiene una extensión dentro de un rango de 700 nm a 2 μm . Lo anterior se debe al efecto de retracción que se ha reportado que causa el GTH usado para la fijación de células [122], [123] y el efecto citotóxico que provocan las NPs de ZnO [72].

Al hacer la comparación entre la cantidad de bioaerosoles de los sistemas ZnO/Poraver y TiO₂/Poraver la concentración de bioaerosoles en el segundo sistema es nula ya que se lograron identificar de 1 a 4 células en cada muestra del soporte. Esto puede ser atribuido a la lisis celular sobre el TiO₂ [18] como se puede observar en la Figura 51 (A y B). Por lo anterior las micrografías mostradas en la Figura 51 son de espacios puntuales enfocados a las células que lograron observarse.

En la Figura 51D se puede observar hendiduras que también pudieron ocasionarse por la irradiación UVC del sistema [18]. Así mismo se puede observar en la Figura 51E que las partículas que rodean a la célula son las nanopartículas de TiO₂ debido al análisis elemental (EDS) que se realizó durante la observación en SEM. Finalmente, en la Figura 51F se puede ver una célula con la membrana dañada por lo que se podría atribuir a la oxidación de los componentes de la membrana con los radicales hidroxilo y la interacción con las NPs de TiO₂ y la célula.

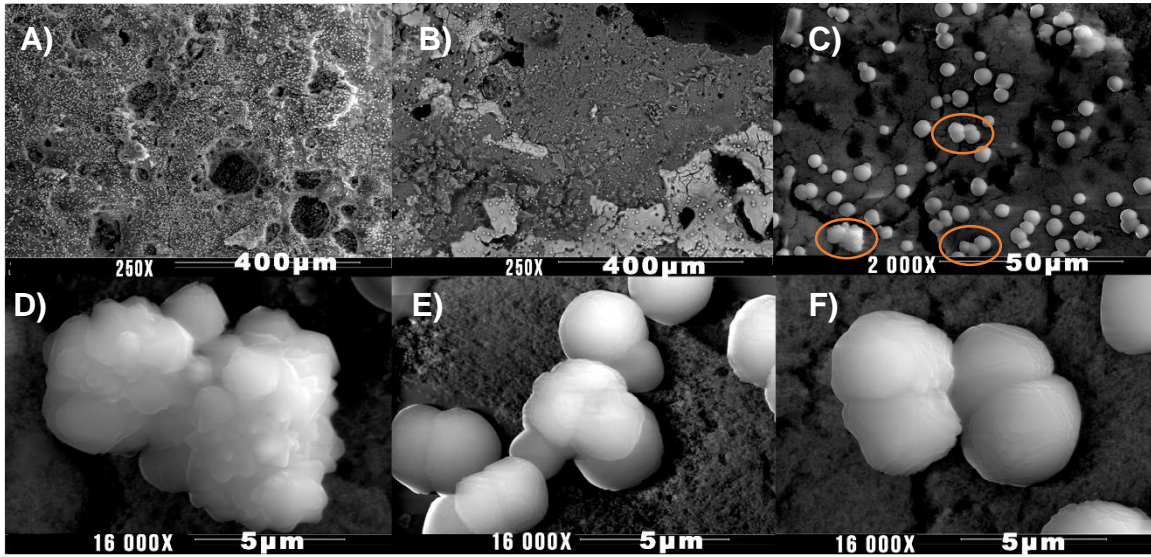


Figura 50. Micrografías de bioaerosoles en ZnO/Poraver

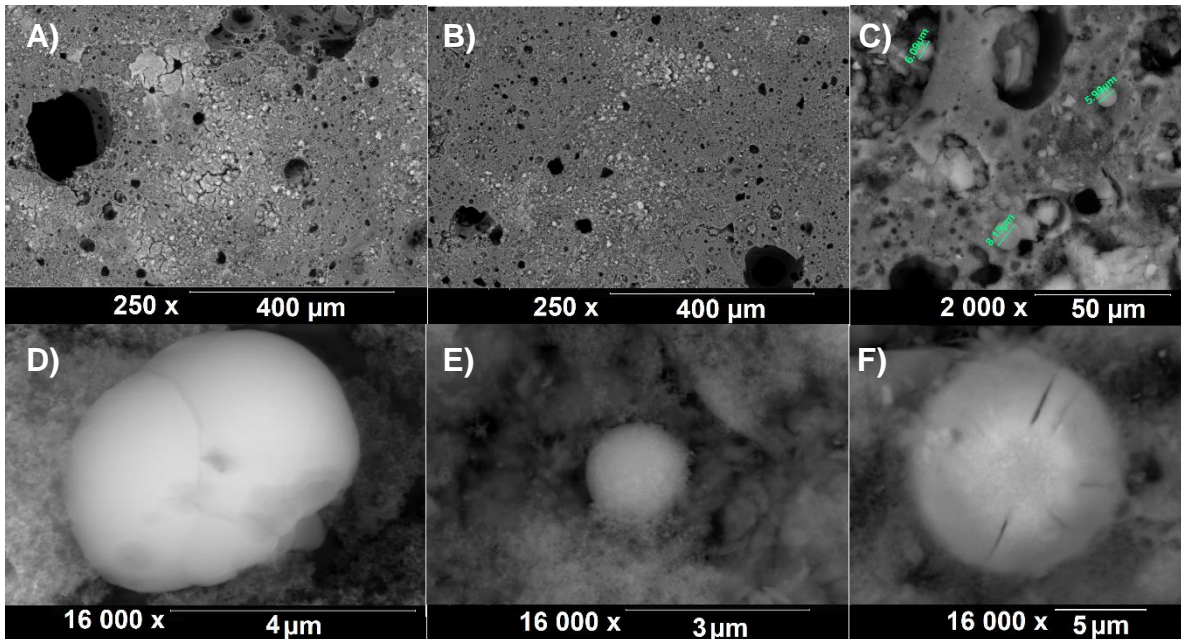


Figura 51. Micrografías de bioaerosoles en TiO₂/Poraver

Con base en las micrografías mostradas en las Figuras 38 (Capítulo V), 50 y 51 se propone un mecanismo de inactivación y daño de bioaerosoles por la fotocatalisis con el ZnO (Figura 52). La inactivación y daño de bioaerosoles por TiO₂ se produce por lisis celular y daño en la membrana de las células de bioaerosoles.

En la Figura 52 se puede observar que cuando se liberan los radicales hidroxilo por la fotoexcitación del ZnO [17], los radicales y el catalizador interaccionan con los bioaerosoles y pueden provocar la ruptura o daño de la membrana celular, lisis celular y liberación de sustancias endoplasmáticas y la modificación morfológica como se ha reportado por el estudio de Xie y col. (2011) [73] donde por la interacción

de las NPs de ZnO y las células se modificaron las células de bastones a cocos. Así mismo, Jacoby y col. (1198) [18] observaron daños en la membrana celular y lisis celular de *E. coli* por daño fotocatalítico con TiO₂.

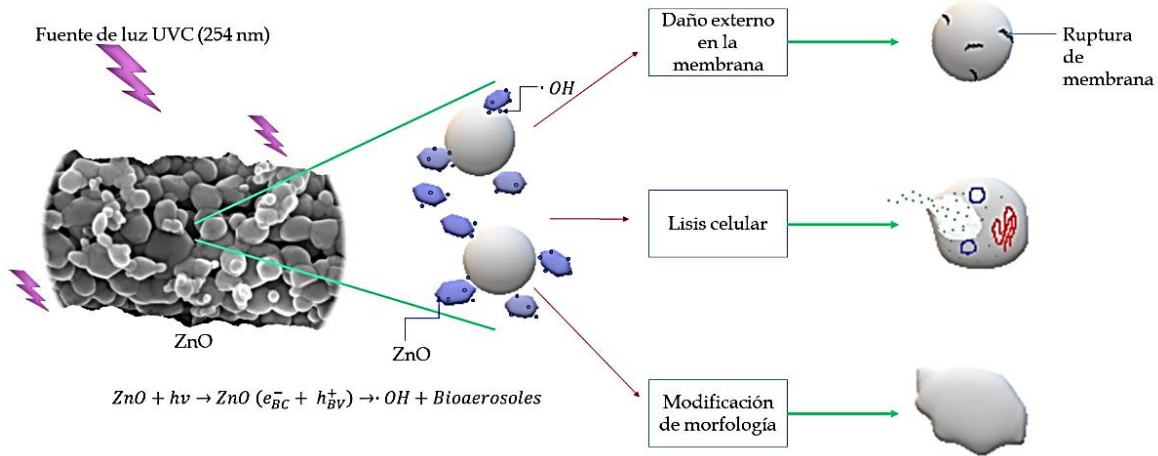


Figura 52. Mecanismo de inactivación fotocatalítica de bioaerosoles con ZnO

2.3 Balance de bioaerosoles

Para poder determinar una eficiencia de retención de bioaerosoles a través del tiempo se hizo un balance global evaluado a las 96 horas del proceso fotocatalítico, ya que es el tiempo en que se pudo extraer una muestra del soporte para el desprendimiento y posterior análisis celular. El balance global para ambos sistemas se muestra en la Tabla 10.

El balance se desarrolló con las ecuaciones 16, 17 y 18 para homogenizar unidades con respecto a las células acumuladas en el soporte:

$$\text{Bioaerosoles (células)} = X \frac{\text{cel}}{\text{m}^3 \text{aire}} \left(\frac{0.0022 \text{ m}^3}{\text{min}} \right) (\text{Tiempo}) \dots \text{Ecuación 16}$$

$$\text{Bioaerosoles}_{\text{en soporte}} (\text{células}) = X \frac{\text{células}_{\text{retenidas}}}{g_{\text{soporte}} * \mu\text{L}} (\text{Volumen muestra}) (Y g_{\text{soporte}}) \dots \text{Ecuación 17}$$

$$\text{Balance global} = \text{Entrada} - (\sum \text{Salidas} + \text{Acumulación}_{\text{soporte}}) \dots \text{Ecuación 18}$$

En la ecuación 16 se puede apreciar que se involucra el flujo del biofiltro que es el mismo que tiene el fotorreactor para poder considerar el tiempo de evaluación y la cantidad de células en la muestra medidas con el citómetro de flujo. Al final se obtiene el valor numérico de bioaerosoles en unidades de células que se pueden comparar con el número de células retenidas en el soporte (ecuación 17).

El balance global se calcula con el uso de la ecuación 18 donde se involucra la cantidad de células a la entrada durante las 96 horas y la suma de todas las células cuantificadas durante todo el proceso de fotocatalisis, así como la cantidad de células retenidas en el soporte.

Debido a que no se analizaron todas las muestras de la salida de cada sistema para calcular la cantidad de esporas fúngicas el balance global, que se muestra en la Tabla 10, no incluye la cantidad de esporas fúngicas. Sin embargo, se hizo la evaluación de esporas fúngicas retenidos en el soporte al final de las 96 h del proceso de fotocatalisis. Se determinó que se retuvieron 9.38×10^6 esporas fúngicas/m³aire para el sistema ZnO/Poraver y 1.01×10^7 esporas fúngicas/m³aire para el sistema TiO₂/Poraver, lo cual corresponde a un 0.45% y 0.03% del total de bioaerosoles retenidos en el soporte.

Los números negativos expresados en la Tabla 10 se deben a que hubo un proceso de desorción de bioaerosoles, el cual también se puede apreciar en las Figuras 47 y 48 a partir de las horas 4, 9 y 24 en el sistema ZnO/Poraver y la hora 36 en el sistema TiO₂/Poraver (línea de bioaerosoles totales sobre las barras en las gráficas). Lo anterior se atribuye a que el sistema está compuesto de catalizadores mesoporosos con isoterma tipo IV, lo cual permite procesos de fisorción no selectivos.

Tabla 10. Balance global para los sistemas fotocatalíticos con poraver.

Condiciones de muestreo en fotorreactor	Valor (Células _{totales})					
	ZnO			TiO ₂		
Células a la entrada	1.58x10 ⁹			4.61x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D
	38.37%	59.96%	1.99%	31.94%	65.00%	3.06%
Sumatoria de células en las 18 salidas	1.40x10 ⁹			8.97x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D
	63.30%	32.15%	4.24%	24.05%	74.09%	1.86%
Células retenidas en soporte (Acumulación _{soporte})	2.07x10 ⁷			4.00x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D
	43.58%	41.16%	15.26%	4.54%	94.95%	0.51%
Balance global	-1.88x10⁹ células			-5.50x10⁹ células		

V= Células vivas; M= Células muertas; C = Células dañadas

Con el balance global se demostró que en el sistema ZnO/Poraver el mayor porcentaje de células a la salida del fotorreactor (T₀) es de vivas (63.30 %) comparado con el 38.37% de células vivas a la entrada del fotorreactor. Lo anterior se puede atribuir a una acumulación de células en el soporte y la pronta desactivación del ZnO por las reacciones de competencia con CO₂ y dicho porcentaje es variable a lo largo de las 96 h de operación del sistema. Durante las últimas 24 h de operación del sistema se registró un promedio de $2.05 \times 10^8 \pm 4.8 \times 10^7$ células, siendo este valor 20.31 mayor comparado con el de las primeras 4 h de operación, que es cuando se logra estabilizar la cantidad de células vivas a la salida del fotorreactor, se registró un promedio de $1.01 \times 10^7 \pm 8.92 \times 10^6$ de células vivas a la salida del fotorreactor. Se puede observar una mayor cantidad de células dañadas retenidas en el en el soporte con respecto a las células dañadas a la entrada del fotorreactor y a la salida del mismo de 7.66 veces mayor y 3.59 veces mayor,

respectivamente. Lo anterior se puede atribuir a la citotoxicidad que pueden provocar las NPs de ZnO [72].

En cambio, en el sistema TiO₂/Poraver se registró una mayor cantidad de bioaerosoles totales a la entrada del fotorreactor (4.61×10^9 - T₀) y a partir de la hora 36 de operación se registró un proceso de desorción. A partir de esta hora la cantidad de bioaerosoles totales en las salidas del fotorreactor se estabilizó con respecto a la cantidad en la entrada haciendo evidente el proceso de desorción y la estabilidad del sistema términos de fisorción. Además, con el balance global de bioaerosoles retenidos en el soporte del fotorreactor, se registró un 29 % más de células muertas comparado con el de la entrada debido a la lisis celular sobre el TiO₂ [18].

El porcentaje de células dañadas se mantiene constante con un promedio de 5.02 ± 1.03 de células en el sistema ZnO/Perlita y de 4.51 ± 0.62 de células en el sistema TiO₂/Perlita. En ambos sistemas es al menos 1.38 y 1.17 veces mayor la cantidad de células dañadas a la salida y retenidas en el soporte, respectivamente, con respecto a las de la entrada.

3. CONCLUSIONES

Se determinó que no existe un efecto fotolítico significativo en la inactivación de bioaerosoles. Además, se pudo comprobar que el solo contacto de los bioaerosoles con las nanopartículas no tiene un efecto significativo en los porcentajes de composición de las muestras colectadas a la entrada y salida del biofiltro. Y, mediante los análisis por citometría de flujo se logró determinar que el sistema con mayor eficiencia de inactivación de bioaerosoles fue el TiO₂/Poraver con un porcentaje de inactivación de 77.8 % en la hora 2 del proceso y una eficiencia mínima promedio de 27.94 ± 10.4 % en las horas 1, 2.5 y 3.5. por otro lado, el sistema fotocatalítico ZnO/Poraver no tuvo un impacto en la inactivación de los bioaerosoles emitidos por el biofiltro.

Se comprobó que la capacidad de retención de agua es un parámetro vital para el desarrollo de la fotocatalisis con las diferentes nanopartículas empleadas en este estudio ya que tienen diferentes grados de afinidad a las moléculas del agua, lo que impacta directamente en su tiempo de vida media, así como la eficiencia en la producción de radicales hidroxilo que inactiven los bioaerosoles.

El balance global de bioaerosoles resulta en números negativos debido a que se tienen procesos de desorción física de bioaerosoles en los catalizadores mesoporosos.

Los bioaerosoles están compuestos de un 94 – 99.7 % de bacterias y levaduras y de un 0.29 – 6 % de esporas fúngicas. Se retuvieron 9.4×10^6 esporas fúngicas /m³aire para el sistema ZnO/Poraver y 1.01×10^7 esporas fúngicas/m³aire para el

sistema TiO₂/Poraver, lo cual corresponde a un 0.45% y 0.03% del total de bioaerosoles retenidos en el soporte.

Los mecanismos de inactivación de los bioaerosoles observado en las micrografías obtenidas a través de microscopia electrónica de barrido fue por daño en la membrana de los bioaerosoles, lisis celular, así como la modificación morfológica de las células.

4. REFERENCIAS

- [1] A. Vergara-Fernández, V. Salgado-Ísmodes, M. Pino, S. Hernández, and S. Revah, "Temperature and moisture effect on spore emission in the fungal biofiltration of hydrophobic VOCs," *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 47, no. 4, pp. 605–613, 2012.
- [2] C. Wang, J. Y. Xi, and H. Y. Hu, "Reduction of toxic products and bioaerosol emission of a combined ultraviolet-biofilter process for chlorobenzene treatment," *J. Air Waste Manag. Assoc.*, vol. 59, no. 4, pp. 405–410, 2009.
- [3] S. Esquivel-Gonzalez, A. Aizpuru, A. Patrón-Soberano, and S. Arriaga, "Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 123, pp. 78–86, 2017.
- [4] F. Chen, X. Yang, H. K. C. Mak, and D. W. T. Chan, "Photocatalytic oxidation for antimicrobial control in built environment: A brief literature overview," *Build. Environ.*, vol. 45, no. 8, pp. 1747–1754, 2010.
- [5] A. Pal, X. Min, L. E. Yu, S. O. Pehkonen, and M. B. Ray, "Photocatalytic Inactivation of Bioaerosols by TiO₂ Coated Membrane," *Int. J. Chem. React. Eng.*, vol. 3, pp. 1–12, 2005.
- [6] J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik, "Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 47, no. 3, pp. 187–200, 2003.
- [7] B. Ghosh, H. Lal, and A. Srivastava, "Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms," *Environ. Int.*, vol. 85, pp. 254–272, 2015.
- [12] C. Chang, S. Li, C. Huang, Y. Chen, and C. Chen, "Effects of ultraviolet germicidal irradiation and swirling motion on airborne *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* under various relative humidities," *Indoor Air*, vol. 23, no. Ultraviolet germicidal irradiation on pathogenic bioaerosols, pp. 74–84, 2012.
- [14] D. M. Blake, P.-C. Maness, Z. Huang, E. J. Wolfrum, J. Huang, and W. A. Jacoby, "Application of the Photocatalytic Chemistry of Titanium Dioxide to Disinfection and the Killing of Cancer Cells," *Sep. Purif. Rev.*, vol. 28, no. 1, pp. 1–50, 1999.
- [17] L. Zhong and F. Haghghat, "Photocatalytic air cleaners and materials technologies - Abilities and limitations," *Build. Environ.*, vol. 91, pp. 191–203, 2015.

- [18] W. A. Jacoby, P. C. Maness, E. J. Wolfrum, D. M. Blake, and J. A. Fennell, "Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 17, pp. 2650–2653, 1998.
- [19] P. Chuaybamroong, R. Chotigawin, S. Supothina, P. Sribenjalux, S. Larpiattaworn, and C. Y. Wu, "Efficacy of photocatalytic HEPA filter on microorganism removal," *Indoor Air*, vol. 20, no. 3, pp. 246–254, 2010.
- [20] C. Rodrigues-Silva *et al.*, "Bacteria and fungi inactivation by photocatalysis under UVA irradiation: liquid and gas phase," *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 7, pp. 6372–6381, 2017.
- [31] J. O. Saucedo and S. Arriaga, "Estudio de la degradación de vapores de n-Hexeno mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocatalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro," Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2015.
- [32] N. Goyer, J. Lavoie, L. Lazure, and G. Marchand, *Bioaerosols in the workplace: Evaluations, Control and Prevention Guide*. Montréal (Québec): IRSST - Direction des communications, 2001.
- [33] J. Mandal and H. Brandl, "Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations," *Open Environ. Biol. Monit. J.*, vol. 41, no. 1, pp. 83–96, 2011.
- [37] A. D. Estillore *et al.*, "Atmospheric chemistry of bioaerosols: heterogeneous and multiphase reactions with atmospheric oxidants and other trace gases," *Chem. Sci.*, vol. 7, no. 11, pp. 6604–6616, 2016.
- [38] P. Blais-Lecours, P. Perrott, and C. Duchaine, "Non-culturable bioaerosols in indoor settings: Impact on health and molecular approaches for detection," *Atmos. Environ.*, vol. 110, pp. 45–53, 2015.
- [47] P. S. Chen and C. S. Li, "Sampling performance for bioaerosols by flow cytometry with fluorochrome," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 39, no. 3, pp. 231–237, 2005.
- [56] A. Hernández, "NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización." [Online]. Available: http://www.jmcpri.net/NTPs/@Datos/ntp_313.htm. [Accessed: 11-Jan-2017].
- [61] B. Sánchez *et al.*, "Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions," *Chemosphere*, vol. 87, no. 6, pp. 625–630, 2012.
- [66] C. Lin, C. Li, C. Lin, and C. Li, "Control Effectiveness of Ultraviolet Germicidal Irradiation on Bioaerosols," *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 6826, no. July, pp. 474–478, 2010.
- [67] E. Kujundzic, M. Hernandez, and S. L. Miller, "Ultraviolet germicidal irradiation inactivation of airborne fungal spores and bacteria in upper-room air and HVAC in-duct configurations," vol. 9, no. May, pp. 1–9, 2007.
- [69] J. Peccia and M. Hernandez, "UV-Induced Inactivation Rates for Airborne Mycobacterium bovis BCG," *J. Occup. Environ. Hyg.*, vol. 9624, no. July, 2010.
- [70] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, and Y. Chen, "Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered,"

no. 6, pp. 5164–5173, 2012.

- [72] B. Wu *et al.*, “Comparative eco-toxicities of nano-ZnO particles under aquatic and aerosol exposure modes,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 4, pp. 1484–1489, 2010.
- [73] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, “Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 7, pp. 2325–2331, 2011.
- [74] Y. W. Baek and Y. J. An, “Microbial toxicity of metal oxide nanoparticles (CuO, NiO, ZnO, and Sb₂O₃) to *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, and *Streptococcus aureus*,” *Sci. Total Environ.*, vol. 409, no. 8, pp. 1603–1608, 2011.
- [81] J. Podporska-Carroll *et al.*, “Antibacterial properties of F-doped ZnO visible light photocatalyst,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 324, pp. 39–47, 2017.
- [88] S. N. Hosseini, S. M. Borghei, M. Vossoughi, and N. Taghavinia, “Immobilization of TiO₂ on perlite granules for photocatalytic degradation of phenol,” *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 74, no. 1–2, pp. 53–62, 2007.
- [89] K. S. W. Sing *et al.*, “International Union of Pure and Applied Chemistry, Including Catalysis-Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity,” *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 603–619, 1985.
- [90] M. Hinojosa, S. Arriaga, and V. Rodríguez, “Estudio de un sistema híbrido de degradación de etilbenceno: oxidación avanzada UV / TiO acoplada a un biofiltro,” Instituto Potosino de Investigación científica y Tecnológica, A.C., 2011.
- [92] L. M. Vanhee, H. J. Nelis, and T. Coenye, “Rapid detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* in environmental air samples using solid-phase cytometry,” *Env. Sci Technol*, vol. 43, no. 9, pp. 3233–3239, 2009.
- [93] T. García, S. Arriaga, F. Alatríste, and A. Aizpuro, “Efecto de la Adición de Pulsos de Ozono Sobre la Composición de la Biopelícula Durante la Biofiltración de Formaldehído,” 2012.
- [101] J. Saucedo, G. Quijano, and S. Arriaga, “Hexane abatement and spore emission control in a fungal biofilter-photoreactor hybrid unit,” vol. 276, pp. 287–294, 2014.
- [108] K. Yang, L. Li, W. Ding, and S. Xue, “A full-scale thermophilic biofilter in the treatment of sludge drying exhaust : performance , microbial characteristics and bioaerosol emission,” *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 0, no. December 2017, 2018.
- [110] P.-S. Chen and C.-S. Li, “Real-time monitoring for bioaerosols—flow cytometry,” *Analyst*, vol. 132, no. 1, pp. 14–16, 2007.
- [114] G. Madhumitha, G. Elango, and S. M. Roopan, “Biotechnological aspects of ZnO nanoparticles: overview on synthesis and its applications,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 2, pp. 571–581, 2016.
- [115] Z. Wang *et al.*, “Anti-microbial activities of aerosolized transition metal oxide nanoparticles,” *Chemosphere*, vol. 80, no. 5, pp. 525–529, 2010.

- [116] S. R. Lingampalli, M. M. Ayyub, and C. N. R. Rao, "Recent Progress in the Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide," *ACS Omega*, vol. 2, no. 6, pp. 2740–2748, 2017.
- [117] Y. Xia, J. Wang, R. Chen, D. Zhou, and L. Xiang, "A Review on the Fabrication of Hierarchical ZnO Nanostructures for Photocatalysis Application," *Crystals*, vol. 6, no. 11, p. 148, 2016.
- [118] V. Prigione, G. Lingua, and V. F. Marchisio, "Development and Use of Flow Cytometry for Detection of Airborne Fungi," *Society*, vol. 70, no. 3, pp. 1360–1365, 2004.
- [121] BD Biosciences, "BBL™ Calcofluor White Reagent Droppers," 2016.
- [122] Universidad de Vigo. Facultad de Biología, "Técnicas Histológicas. 2- Fijación. Fijadores. Atlas de Histología Vegetal y Animal," *Atlas de Histología Vegetal y Animal*, 2018. [Online]. Available: <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/2-fijadores.php>. [Accessed: 22-Jun-2018].
- [123] S. Verdín *et al.*, *Histología e Inmunohistoquímica. Manual de Métodos*. 2013.
- [125] S. L. Daniels, "On the qualities of the air as affected by radiant energies (photocatalytic ionization processes for remediation of indoor environments)," *J. Environ. Eng. Sci.*, vol. 6, no. September, pp. 329–342, 2007.
- [126] J. M. Meichtry *et al.*, "Low-Cost TiO₂ Photocatalytic Technology for Water Potabilization in Plastic Bottles For Isolated Regions. Photocatalyst Fixation," *J. Sol. Energy Eng.*, vol. 129, no. 1, p. 119, 2007.
- [127] C. B. Ong, L. Y. Ng, and A. W. Mohammad, "A review of ZnO nanoparticles as solar photocatalysts: Synthesis, mechanisms and applications," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 81, no. March 2017, pp. 536–551, 2018.
- [128] K. M. Lee, C. W. Lai, K. S. Ngai, and J. C. Juan, *Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review*, vol. 88. Elsevier Ltd, 2016.

CAPITULO VII: EFECTO DEL MATERIAL DE SOPORTE (PERLITA Y PORAVER) EN EL DESEMPEÑO DE LOS FOTOCATALIZADORES ZnO Y TiO₂ EN LA INACTIVACIÓN DE BIOAEROSOLES

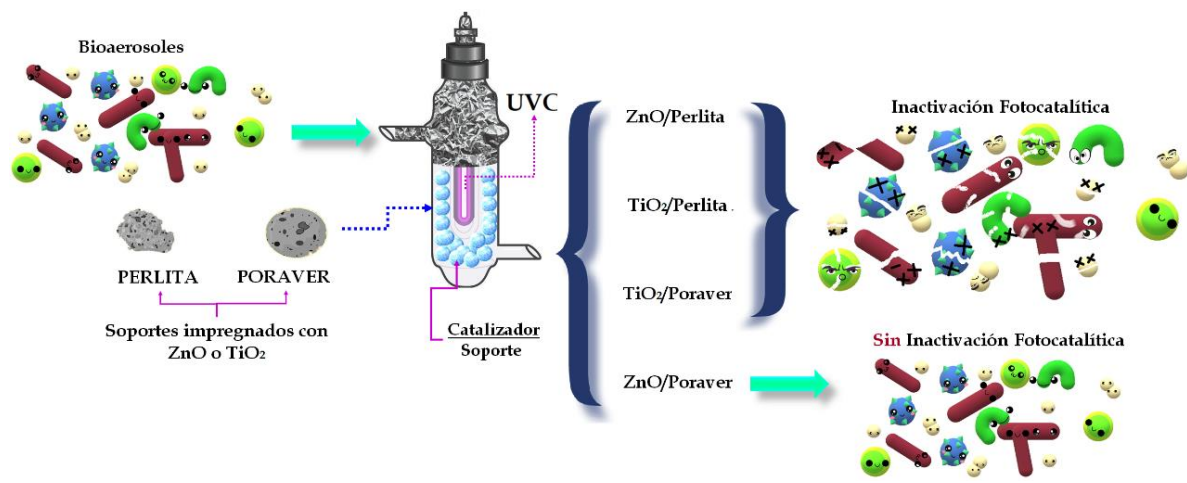
RESUMEN

El tratamiento de aire de interiores o de corrientes gaseosas es crucial para mantener o mejorar la calidad de aire al que estamos expuestos, por lo que los procesos de tratamiento en modo continuo representan aplicaciones reales a las necesidades de mejora de la calidad de aire de interiores. La fotocatalisis heterogénea con los catalizadores inmovilizados representa una tecnología factible para desarrollar procesos con flujo continuo que eliminan el problema de la pérdida del catalizador. El aire de interiores puede estar contaminado por un 35% de partículas biológicas suspendidas en aire, conocidas como bioaerosoles que son de alta complejidad y causan una amplia diversidad de enfermedades infecciosas, respiratorias y crónico degenerativas. Se han desarrollado sistemas fotocatalíticos para el tratamiento de bioaerosoles sintéticos en flujo continuo y se ha demostrado que el tipo de soporte influye en la eficiencia de inactivación de bioaerosoles debido a la capacidad de impregnación que puede alcanzar el soporte y a la humedad que puede retener.

Por lo anterior, se desarrolló un proceso de inactivación fotocatalítica con flujo continuo de bioaerosoles reales emitidos por un biofiltro que trató vapores de acetato de etilo con un fotorreactor anular de 210 mL que operó con un tiempo de residencia de gas de 5.72 segundos. El fotorreactor fue empacado con perlita o poraver, previamente impregnados con los catalizadores ZnO o TiO₂ y se colocó una lámpara-UV de 254 nm. Los bioaerosoles fueron muestreados a la entrada y salida del fotorreactor por medio de un impinger AGI-30 y fueron cuantificados y caracterizados por medio de la técnica de citometría de flujo usando fluorocromos (yoduro de propidio y naranja de tiazol) y en función del número de células vivas, muertas y dañadas en las muestras.

Los resultados mostraron que el sistema fotocatalítico más eficiente fue el de ZnO/Perlita con un 68-72% de inactivación de bioaerosoles, manteniendo dicho porcentaje de inactivación durante 7.5 horas en comparación con los sistemas fotocatalíticos de TiO₂/Perlita y TiO₂/Poraver, que tuvieron un porcentaje de inactivación máximo de 40% y 70% pero el tiempo de desactivación catalítica fue más reducido de 1 y 3.5 horas, respectivamente. Por otro lado, el sistema ZnO/Poraver no logró inactivar bioaerosoles debido a la baja capacidad de retención de agua del soporte y a las reacciones de competencia entre la oxidación del material biológico y la reducción del CO₂.

Palabras clave: catalizadores inmovilizados, fotocátalisis en flujo continuo, inactivación de bioaerosoles, citometría de flujo



Resumen gráfico del capítulo VII

1. INTRODUCCIÓN

Los bioaerosoles se definen como partículas suspendidas en el aire provenientes de material biológico con un diámetro aerodinámico entre 0.5 y 200 μm [32]. Consisten de bacterias, hongos, virus, partículas de peso molecular alto, alergénicos, endotoxinas, micotoxinas, peptidoglicanos, $\beta(1\rightarrow3)$ -glucanos, polen y fibras de planta [6], [33].

La contribución de los bioaerosoles en el aire es de un 40%, seguido de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) con un 40% y partículas físicas suspendidas con un 20% [35]. Los bioaerosoles son ubicuos en el ambiente, pero existen factores que provocan la acumulación y proliferación de bioaerosoles como la humedad, temperatura, incidencia de luz, presencia de humanos, plantas, animales o desarrollo de procesos biológicos como la biofiltración, biorreactores con membranas y biolavadores [33], [37]. Los bioaerosoles pueden causar diversas afecciones a la salud como enfermedades infecciosas (gripa, influenza y tuberculosis), enfermedades respiratorias (asma, rinitis, conjuntivitis, neumonías) y cáncer [6], [38], [56].

Por lo anterior, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido que el Valor Límite de Exposición (ELV) de bioaerosoles, en aire de interiores, debe ser menor a las 300 UFC/ m^3 [3] debido a que los ocupantes de edificios permanecen más del 89% del tiempo en interiores [7].

Se han desarrollado diversas tecnologías para el control y remoción de los bioaerosoles en aire de interiores dentro de las cuales la fotocatalisis heterogénea representa una alternativa viable ya que se producen radicales hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), los cuales son altamente reactivos y son consideradas las especies oxidantes dominantes que contribuyen a la mineralización de los bioaerosoles en aire [4], [17] mediante el rompimiento de la membrana celular, causando la oxidación de las proteínas (desnaturalización) y al daño al ADN [70].

La mayoría de los estudios fotocatalíticos para la inactivación de bioaerosoles se ha desarrollado con bioaerosoles sintéticos, los cuales son bioaerosoles con cultivos prefabricados de bacterias u hongos con especies y concentraciones conocidas como *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium* [61], *Staphylococcus epidermidis* o *Bacillus subtilis* [19] que son comúnmente encontradas en aire ambiente y han sido evaluados en sistemas en lote [5], [18], [75], [81] y en procesos en continuo [19], [20], [61], [66]. Por ejemplo, Rodrigues y col. (2017) [20] desarrollaron un sistema en lote para demostrar la capacidad de inactivación fotocatalítica con TiO_2 y ZnO en agua para las bacterias *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Staphylococcus aureus* y *S. saprophyticus*, *Aspergillus fumigatus* y *Penicillium spp.* Obtuvieron hasta un 100% de inactivación de las bacterias y en un proceso en continuo en fase gaseosa evaluaron la capacidad de inactivar las bacterias (concentración inicial de 10^6 UFC/mL) y

Aspergillus fumigatus (concentración inicial de 10^4 UFC/mL) con TiO_2 obteniendo una inactivación del 90% y 80% para bacterias y el hongo, respectivamente. Las concentraciones usadas por Rodrigues y col. [20] son al menos un orden de magnitud inferior a las que se han encontrado en el aire ambiente por medio de métodos de cultivo independiente [3].

Los procesos fotocatalíticos en modo continuo son cruciales para el desarrollo de tecnología aplicable para el control de la calidad de aire de interiores. Una de los principales retos de estos sistemas es evitar la pérdida de catalizadores durante el desarrollo del proceso por lo que se han evaluado diferentes tipos de soportes para la inmovilización de los catalizadores entre ellos han sido placas de vidrio [18], [78], microesferas de vidrio huecas [129], [130] filtros de acetato de celulosa [19], [20], membranas poliméricas [5], tereftalato de polietileno (PET) [61], carbón activado [21], [131], entre otros. De igual forma, existen diferentes métodos o técnicas de impregnación (inmovilización) de los catalizadores sobre los soportes como el método de recubrimiento por inmersión en sol-gel, el térmico, el de deposición de vapores químicos, el de spraying (capa por capa). Meichtry y col. (2007) [126] probaron diferentes materiales de soporte como cerámica, placas de vidrio, anillos de vidrio y botellas de plástico PET que fueron impregnadas con soluciones al 2% (P/V) de TiO_2 (-25 Degussa) para el tratamiento fotocatalítico de agua para consumo humano. Determinaron que el soporte con mayor grado de impregnación fue la cerámica con 2.10 mg TiO_2 /g soporte, seguido de las placas de vidrio y los anillos de vidrio con 1.24 mg TiO_2 /g soporte y 1.01 mg TiO_2 /g soporte, respectivamente. Finalmente, obtuvieron un grado de impregnación de 0.18 – 0.21 mg TiO_2 /g soporte en las botellas PET. Aunque la eficiencia fotocatalítica de las nanopartículas (NPs) de TiO_2 disminuyó debido a que se redujo el área superficial específica y aumentaron las limitaciones de transferencia de masa, sin embargo, los materiales cerámicos evaluados tuvieron una velocidad de reacción y eficiencia de degradación, de una solución 0.2 mM de 4-chlorophenol (4-CP), similar a la de las NPs suspendidas con una cinética de orden cero en un tiempo de 120 min para ambos casos. La eficiencia de degradación del 4-CP fue de 75% y 100% con TiO_2 /cerámica y NPs suspendidas, respectivamente. Por lo tanto, la impregnación de los semiconductores en materiales como polímeros, fibra de vidrio, filtros de celulosa, perlita, placas de vidrio de cuarzo y otros parece ser una alternativa viable para evitar este problema [18]–[20], [61], [101].

De los métodos de impregnación mencionados anteriormente se ha utilizado ampliamente el recubrimiento por inmersión por sol-gel para tratamientos fotocatalíticos de vapores de hexano con nanopartículas de ZnO [132] y de etilbenceno con In/TiO_2 [90]. Sánchez y col. (2012) [61] estudiaron la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles reales con TiO_2 , impregnado en Tereftalato de polietileno (PET), y a un flujo de 180 L/min de un laboratorio de 42 m² ocupado por cinco personas, encontrando una eficiencia de inactivación para bacterias de hasta 76% y sin inactivación significativa para hongos [61]. Por otro lado, también se ha

utilizado el método de recubrimiento capa por capa (spraying) para impregnar con P25-Degussa (TiO_2) a filtros HEPA en la inactivación fotocatalítica de bioaerosoles sintéticos compuestos de *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Staphylococcus epidermidis*, y *Bacillus subtilis* con un flujo de 1440 L/min donde se alcanzó una inactivación de 60% para hongos y 80% para bacterias [19]. Otro estudio empleó el mismo método de impregnación con nanopartículas de *Sophora flavescens*/fibras de carbón activado para la inactivación de *Staphylococcus epidermidis* sin irradiación y con 1 min de tiempo de contacto y la degradación de tolueno con un flujo de 0.1 L/min, se obtuvieron eficiencias superiores al 80% para ambos procesos [131].

Antes de desarrollar los métodos de inmovilización de los catalizadores sobre los diferentes soportes se usan diferentes solventes (etanol, metanol, xilano, agua saturada de cal o polímeros) donde se suspenden los catalizadores para formar soluciones dispersadas y evitar las aglomeraciones de las nanopartículas, aumentar el A_{BET} sobre el soporte y no afectar en el rendimiento fotocatalítico [17], [50], [117]. Así mismo, la temperatura de calcinación o secado de agentes dispersantes es un factor que debe ser estrictamente controlado ya que el secado rápido puede conducir a la formación de hojuelas del fotocatalizador [17], [133] o pueden ocurrir transformaciones de fase en el catalizador y causar un decremento en la fotoactividad [17], [50], [87], [134]. La masa impregnada se debe calcular de acuerdo a la diferencia de peso después del tratamiento de deposición [50], [87].

La relación entre la cantidad o concentración del fotocatalizador y el soporte afecta la fuerza de adhesión a la superficie del material a impregnar [17]. El método de síntesis de las nanopartículas afecta su A_{BET} , tamaño de nanopartícula, fases cristalinas dominantes, así como la concentración de nanopartícula que puede ser impregnada en el soporte [135]–[137].

Dentro de las características de los soportes que se pueden emplear en los procesos fotocatalíticos para la inactivación de bioaerosoles se debe considerar la porosidad, área superficial específica, capacidad de retención de agua como precursor de los radicales hidroxilo, tamaño, resistencia, estabilidad y afinidad a los catalizadores para evitar la pérdida de los mismos en procesos con flujo continuo a través de los fenómenos de abrasión y arrastre que pueda causar la corriente de aire contaminada [50], [87], [111], [114].

Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue estudiar el efecto de material de soporte en la impregnación de los catalizadores ZnO y TiO_2 y su eficiencia en la inactivación fotocatalítica con flujo continuo de bioaerosoles reales emitidos por un biofiltro que trata vapores de acetato de etilo. Los bioaerosoles fueron cuantificados y caracterizados en función de su viabilidad por medio de la citometría de flujo y microscopia de epifluorescencia.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La perlita es una roca de vidrio de origen volcánico formada por estructuras amorfas de SiO_2 y Al_2O_3 . Es capaz de expandir su volumen original de 4 – 20 veces al aplicar calor [119]. Por otro lado, el poraver es un producto esférico resultante del reciclaje de vidrio molido y están compuestas principalmente por SiO_2 , con pequeñas porciones de Na_2O , K_2O y CaO [87]. Debido a que ambos materiales tienen como base en su estructura química el SiO_2 , son químicamente estables. Además, el poraver es mecánica y térmicamente estable [87].

La morfología de los soportes sin catalizador impregnado se muestra en las Figuras 53 y 54. Se ha reportado que la perlita tiene una textura rugosa, como se puede ver en la Figura 53, y que tiene un porcentaje de poros de 77% a 85% [93], [138] o hasta del 92 % [119]. Sin embargo, en la Figura 54 se puede ver que la superficie del poraver es lisa y que la distribución de los poros no es homogénea y además es escasa. Por lo tanto, estas características en el poraver no permiten que los catalizadores se adhieran a la superficie tan eficientemente como en la perlita, como se muestra en los resultados de grado de impregnación detallados en la Tabla 11, y cuyo grado de impregnación en perlita fue 2.58 para ZnO y 8.36 para TiO_2 .

Tabla 11. Características fisicoquímicas de los catalizadores impregnados en los soportes

Característica	ZnO/Perlita	ZnO/Poraver	TiO ₂ /Perlita	TiO ₂ /Poraver
Morfología	Empaquetamiento de cristales	Empaquetamiento de cristales con tendencia a formar aglomerados	Empaquetamiento de cristales	Empaquetamiento de cristales
ABET (m²/g)	15.60	10.00	-	-
Tipo de Isoterma	IV	IV	-	-
Tipo de lazo de Histéresis	H ₂	H ₂	-	-
GI (g_{catalizador}/g_{sopORTE})	0.129	0.050	0.343	0.041
CRA (mL/g)	2.79	1.51	2.89	1.58
DAI (g/mL)	0.15	0.16	0.15	0.16
Volumen requerido en FTR (mL)	49.61	123.3	19.34	150.8

ABET = Área superficial específica; GI = Grado de impregnación; CRA = Capacidad de retención de agua; DAI= Densidad Aparente del Soporte Impregnado; FTR = Fotorreactor

Como se determinó en el capítulo V y VI con la microscopia electrónica de barrido y los análisis de XRD, la morfología del ZnO tiene un patrón hexagonal característico

del zinc [31], además, se observó un empaquetamiento de cristales (Figura 55). Los cristales de TiO_2 son cúbicos y aglomerados (Figura 57).

En las Figuras 54 y 56 se muestra que la impregnación de los fotocatalizadores en perlita fue más homogénea que en poraver (Figuras 56 y 58), aunque no con el mismo grado de impregnación para ninguno de los soportes. En base a los análisis elementales EDS (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy) que se hicieron con el equipo FEI QUANTA 250 se determinó que la forma de impregnación no modifica la composición de los catalizadores. Además, estudios anteriores han comprobado que las características cristalográficas de los polvos permanecen sin modificaciones [87], [90].

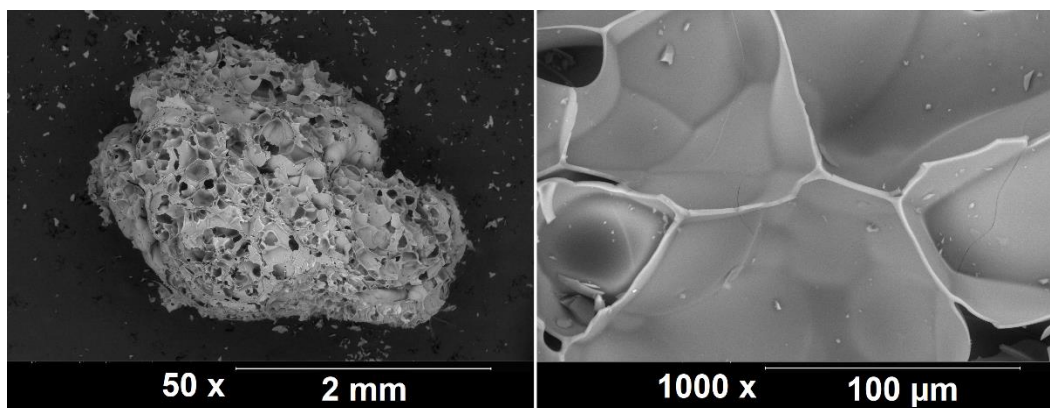


Figura 53. Perlita sin catalizador impregnado

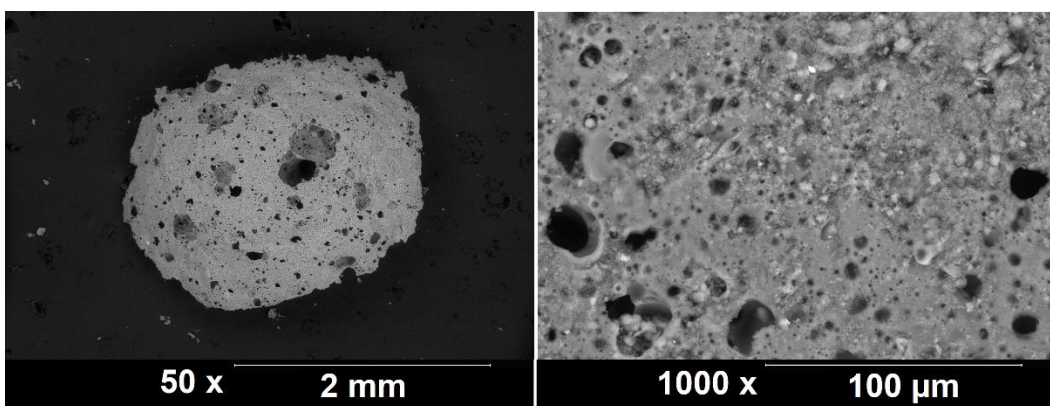


Figura 54. Poraver sin catalizador impregnado

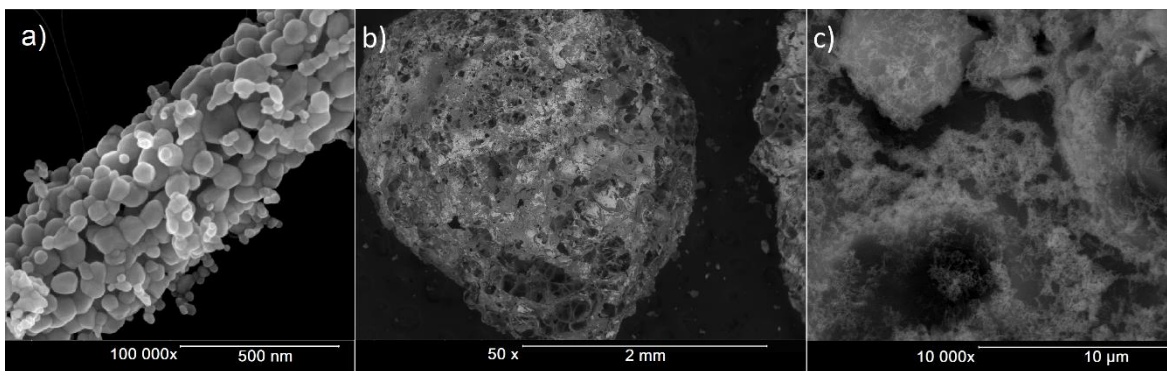


Figura 55. Caracterización morfológica y de distribución sobre perlita del ZnO; a) Nanopartícula ZnO, b) y c) ZnO/Perlita

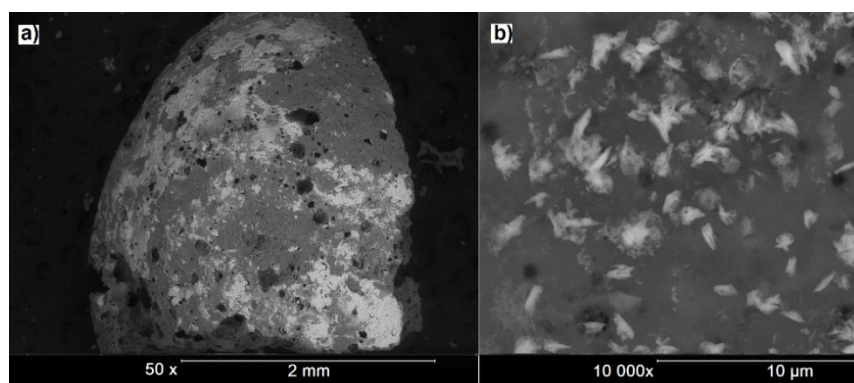


Figura 56. Micrografías a diferentes aumentos de ZnO/Poraver

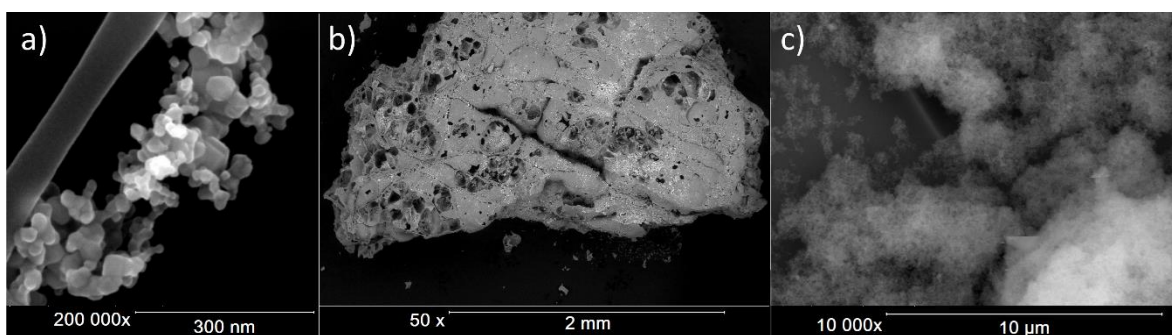


Figura 57. Caracterización morfológica y de distribución sobre perlita del TiO₂; a) Nanopartícula TiO₂, b) y c) TiO₂/Perlita

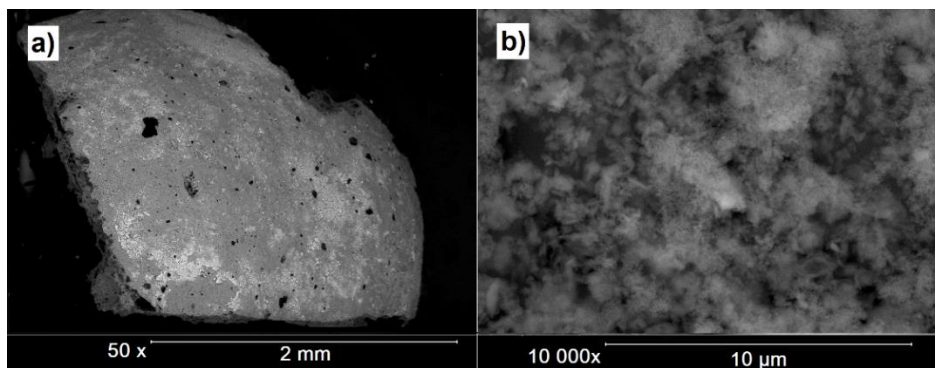


Figura 58. Micrografías a diferentes aumentos de $\text{TiO}_2/\text{Poraver}$

2.2 Fisisorción

El A_{BET} obtenida para los polvos fue de $38.24 \text{ m}^2/\text{g}$ y $53.31 \text{ m}^2/\text{g}$ para el ZnO y TiO_2 , respectivamente. El A_{BET} para los soportes impregnados se muestra en la Tabla 13, así mismo también se puede apreciar el tipo de isoterma y el lazo de histéresis. La A_{BET} del TiO_2 fue 1.39 mayor a la que se obtuvo para el ZnO sintetizado. Sin embargo, las muestras de ZnO y TiO_2 impregnados en poraver no fueron incluidos debido a que el área fue menor al límite de detección del equipo ($0.5 \text{ m}^2/\text{g}$).

Ambos catalizadores presentaron una isoterma tipo IV (Figura 33, capítulo V), la cual es representativa de sólidos mesoporosos dominados por una fisisorción en multicapas [89], [132]. Se obtuvieron lazos de histéresis tipo H_3 para ambos catalizadores (Figura 33, capítulo V) y esto indicó que los sólidos forman aglomeraciones [89] como se puede notar en las Figuras 55 y 57. Esto explica porque no fue posible la detección del área superficial de los catalizadores impregnados en poraver debido a que, como se muestra en las Figuras 56 y 58 se formaron aglomeraciones tanto de ZnO como de TiO_2 sobre el soporte lo que propicio la disminución del A_{BET} por debajo del límite de detección del equipo [87].

El A_{BET} para ZnO fue 2.46 veces más alta que el valor reportado por Saucedo y Arriaga (2014). Lo anterior puede relacionarse con los cambios en la temperatura durante la síntesis del catalizador la cual fue 10°C mayor. Por otro lado, el A_{BET} de TiO_2 obtenida coincide con el rango del área superficial especificado por el proveedor técnico y es el área superficial reportada para la mayoría de los estudios fotocatalíticos desarrollados con este catalizador [17], [19], [20]. Por otro lado, para el ZnO se han desarrollado estudios fotocatalíticos con un área superficial 2.9 veces mayor a las que ha reportado Podporska-Carroll y col. (2017) [85] y 1.09 veces mayor a las NPs que usó Xie y col. (2011) [73].

En la Tabla 11 se puede observar que una vez que se impregnan los catalizadores en la perlita se obtienen isotermas tipo IV que indican una débil interacción entre el adsorbato (catalizador) y el adsorbente (perlita) que permite que se desarrollen fenómenos de fisisorción [89]. Además, se puede observar que el tipo de lazo de

histéresis después de la impregnación es de tipo H_2 , el cual es el tipo de lazo característico de sólidos inorgánicos [89].

Es importante resaltar que una vez que los catalizadores se impregnan en el soporte se reduce el A_{BET} significativamente y en comparación con otros estudios reportados para la fotocatalisis con semiconductores impregnados el A_{BET} obtenida en el presente estudio es comparable solo con soportes de espuma y no coincide con los reportados para materiales de vidrio, como el poraver [17].

2.3 Gravimetría

En la Tabla 11 se muestran los resultados gravimétricos para cada uno de los catalizadores en perlita y en poraver. Se puede observar que el Grado de Impregnación (GI) de ZnO/Perlita fue 3.14 veces mayor con respecto a ZnO/Poraver. Por otro lado, el grado de impregnación que tuvo el TiO_2 /Perlita fue al menos 2.65 veces mayor comparado con los otros 3 sistemas mostrados en la Tabla 2.

El Grado de Impregnación determina la cantidad de soporte impregnado que se debe colocar en el fotorreactor para tener 1 g de catalizador actuando en el sistema de post-tratamiento al biofiltro para la inactivación de bioaerosoles.

Es importante resaltar que el sistema TiO_2 /Perlita mostró la mayor Capacidad de Retención de Agua (CRA), seguido del ZnO/Perlita. Lo anterior se relaciona directamente con la textura y porosidad de los soportes ya que el poraver cuenta con menor porcentaje de poros comparado con la perlita (Figuras 53 y 54), lo que disminuye la cantidad de sitios activos donde se puede fisisorber el catalizador. Además, la CRA es un parámetro importante en el proceso fotocatalítico ya que, la presencia de moléculas de agua es un parámetro crucial para que se inicien las reacciones de producción de radicales hidroxilo en cualquier sistema fotocatalítico [17], [87].

2.4 Controles fotocatalíticos

Los controles de adsorción se desarrollaron para determinar el punto de equilibrio en el que el empaque del fotorreactor alcanzaba la saturación por bioaerosoles [12], [20], [67], es decir, el punto en el que la cantidad de bioaerosoles a la entrada del fotorreactor fue la misma a la salida. Los experimentos indicaron que el equilibrio fue alcanzado a las 20 y 14 horas, para el soporte perlita y poraver, respectivamente. Lo anterior indica que la Perlita tiene mayor capacidad para retener bioaerosoles debido al área superficial específica disponible que se registró con los análisis de fisisorción por su textura rugosa y mayor cantidad de poros uniformes en comparación con el poraver que tiene una textura lisa y una distribución y tamaño de poros irregular [93], así, el punto de saturación de bioaerosoles en la perlita requiere mayor tiempo de exposición al flujo emitido por el biofiltro que el poraver. Además, por medio de un análisis ANOVA simple se determinó que no hay un cambio significativo en la composición de las muestras de bioaerosoles (valor de $P > 0.93$). El tiempo para alcanzar el equilibrio de adsorción

se debe al área superficial específica con la que cuenta cada sistema y los sitios activos disponibles donde puede ocurrir la adsorción de bioaerosoles.

2.5 Proceso de fotocátalisis

Una vez que el equilibrio de adsorción fue alcanzado en ambos soportes, se inició el proceso de fotocátalisis para cada catalizador. La Tabla 12 muestra la eficiencia de inactivación fotocatalítica para los cuatro sistemas (ZnO/Perlita, ZnO/Poraver, TiO₂/Perlita y TiO₂/Poraver). El rendimiento de inactivación fotocatalítica de los bioaerosoles tuvo una eficiencia máxima de inactivación de 72% en la hora 2.5 para el sistema ZnO/Perlita. Dicho porcentaje de inactivación se mantuvo durante las primeras 7.5 h del proceso y disminuyó hasta la hora 60 donde se detectó la desactivación del catalizador ZnO.

Por otro lado, en el sistema ZnO/Poraver no se detectó una eficiencia de inactivación de bioaerosoles debido a que pueden existir reacciones de competencia con el CO₂ que es emitido por el biofiltro ya que la solubilidad del CO₂ en agua es baja [17], [116]. Asociado a lo anterior, la baja capacidad de retención de agua (CRA) que se determinó en los sistemas con poraver (ver Tabla 11), en comparación con los de perlita, promueve reacciones que propician la reducción del CO₂ dentro del fotorreactor por las sustituciones con los aniones aliovalentes y los precursores de los radicales hidroxilo por su alta selectividad al gas [116]. Las especies reducidas del CO₂ se depositan en el catalizador y el coque formado por las especies reducidas de CO₂, los bioaerosoles y las sustancias de lisis celular, disminuyen los sitios activos disponibles para que se produzcan los radicales hidroxilo una vez que las especies se retienen en el catalizador [17].

En el caso del ZnO/Poraver, se pudieron desarrollar reacciones para la producción de $\cdot OH$, sin embargo, dichas especies oxidantes pudieron provocar un daño a los bioaerosoles, lo que provocó que las sustancias exopolisacáridas de la lisis celular contribuyeran a la desactivación del catalizador junto con las especies reducidas del CO₂ y la retención continua de los bioaerosoles sobre el soporte impregnado con el catalizador [127], [128].

Por otro lado, la superficie lisa y la escasa porosidad del poraver tiene un efecto negativo en la fotocátalisis debido a que disminuye el área superficial disponible para que ocurran las reacciones para la producción de radicales hidroxilo ($\cdot OH$) y por consecuencia disminuye la inactivación de bioaerosoles, en comparación con los sistemas con perlita como se demostró con los resultados de fisisorción (Tabla 11).

En la Tabla 12 se puede observar el rendimiento en la inactivación de bioaerosoles en los sistemas TiO₂/Perlita y TiO₂/Poraver, en los cuales se determinó que en ambos sistemas se tuvo un efecto de inactivación, pero en diferentes porcentajes y tiempos. En el sistema TiO₂/Perlita se observó un 40% de eficiencia en la inactivación de bioaerosoles durante la primera hora del sistema, sin embargo, después de este tiempo se observó la desactivación del catalizador al aumentar el

porcentaje de células vivas a la salida del fotorreactor. Caso contrario, en el sistema TiO₂/Poraver se observó que el catalizador se mantuvo activo hasta las primeras 3.5 horas del proceso y se obtuvo una eficiencia de inactivación máxima de 77.8 % en la hora 2 del proceso, después de esta hora el porcentaje de inactivación de bioaerosoles disminuyó.

Tabla 12. Resultados globales en la eficiencia de inactivación de bioaerosoles y desactivación de catalizadores en los cuatro sistemas fotocatalíticos

Sistema		Máximo Porcentaje de inactivación de BSL (bacterias y levaduras) (%)	Concentración total de BSL (bacterias y levaduras) en la hora de inactivación máxima, (células/m ³ aire)			Tiempo de inactivación de BSL (bacterias y levaduras) (h)	Hora de desactivación del catalizador (h)	Máximo Porcentaje de eliminación de EF (%)
ZnO	Perlita	72 ± 0.05%	4.06x10 ⁷ ± 2.51x10 ⁶			7.5	60	63.08 ± 13.63
			V %	M %	D %			
			15.73	81.30	2.97			
	Poraver	0	-			-	0	57.3 ± 0.01
			V %	M %	D %			
			-	-	-			
TiO ₂	Perlita	40 ± 0.5	1.73x10 ⁷ ± 2.88x10 ⁶			1	1	53.13 ± 4.70
			V %	M %	D %			
			24.06	72.20	3.74			
	Poraver	77.8 ± 0.2	8.21x10 ⁷ ± 2.32x10 ⁶			3.5	4	72.8 ± 0.4
V %	M %	D %						
7.52	91.42	1.06						

BSL = Bioaerosoles; V=Vivas; M=Muertas; D=Dañadas; EF = Esporas fúngicas

A partir de la hora 4 del proceso se detectó la desactivación del catalizador debido a una saturación y deposición de los productos de lisis celular (exopolisacáridos) por la degradación de los bioaerosoles. Lo anterior se puede asociar con la saturación de su superficie con las moléculas del vapor de agua, así como los productos de degradación de los bioaerosoles. Se ha reportado que el TiO₂ es altamente hidrofílico y se sobresatura fácilmente de moléculas de H₂O lo que pudo contribuir a su inactivación y así afectar el rendimiento en la producción de radicales hidroxilo en el sistema TiO₂/Perlita [17], [117] y a la saturación de la superficie del catalizador con especies reducidas del CO₂ emitido por el biofiltro [20], [72], [81], [116]. Debido a que la CRA de la perlita es 1.82 veces mayor que la CRA del poraver, las moléculas de agua retenidas afectaron la transferencia de bioaerosoles del medio gaseoso al medio líquido que rodea el TiO₂ en una mayor proporción en el sistema TiO₂/Perlita que en el sistema TiO₂/Poraver y, lo que explica el tiempo de vida media 3.5 veces superior del TiO₂ en poraver comparado con la perlita. Además de la resistencia a la transferencia de masa, los bioaerosoles son moléculas orgánicas complejas que cuando interactúan con el catalizador y los radicales hidroxilo se liberan sustancias de lisis celular o subproductos de degradación que

provocaron el envenenamiento del catalizador obstruyendo los sitios activos para que se puedan desarrollar las reacciones fotocatalíticas [17], [117].

Se usó el Calcofluor-White para teñir y cuantificar el total de hongos y conidias que emitió el biofiltro ya que se une a los polisacáridos (1 – 3) y (1 – 4) – β – D – Glucano (Celulosa y Quitina, respectivamente) [92], [121]. Estos polisacáridos son las especies químicas dominantes de las paredes celulares de las esporas fúngicas [92], que una vez teñidas con el Calcofluor-White presentan fluorescencia cuando se irradian con una longitud de onda cercana a la región UVA y una corta longitud de onda del espectro visible (375 – 470 nm) [92], [121].

Sin embargo, el Calcofluor-White no es selectivo para teñir esporas fúngicas viables y no viables [3], [92], por tal razón, no fue posible calcular una eficiencia de inactivación fotocatalítica fúngica real, únicamente se determinó la diferencia entre la cantidad de esporas fúngicas a la entrada y a la salida de los sistemas, lo que da la eficiencia de eliminación o retención en el soporte, estas tuvieron valores de 53-73%. La cuantificación de las esporas fúngicas no se incluye en la composición de células vivas, muertas y dañadas de las muestras de bioaerosoles mostradas en la Tabla 12, ni tampoco en el balance global de bioaerosoles (Tabla 14). Sin embargo, se determinó que las esporas fúngicas constituyen de 1 a 6 % de la cantidad total de bioaerosoles muestreados en los sistemas con ZnO y de 0.3 a 19% de la cantidad total de bioaerosoles muestreados en los sistemas con TiO₂. En la Tabla 12 se puede apreciar que todos los sistemas tienen una eficiencia en la capacidad de eliminación de esporas fúngicas a la salida del fotorreactor, lo anterior se debe a los procesos de fisisorción que se desarrollan sobre los soportes impregnados con los catalizadores.

Así mismo se hizo la evaluación de esporas fúngicas retenidas en el soporte al final de las 96 h del proceso de fotocatalisis. En la Tabla 13 se muestra la cantidad de bacterias y levaduras cuantificadas por medio de la citometría de flujo, así como la cantidad de esporas fúngicas cuantificada por microscopía de epifluorescencia que fueron retenidos en los diferentes sistemas evaluados. Así mismo, se muestra el porcentaje que representan de los bioaerosoles totales.

Se puede observar que la composición predominante de bioaerosoles emitidos por el biofiltro corresponde a bacterias y levaduras como lo reportado en los estudios que han tratado COVs con biofiltros inoculados con licor mixto de plantas de tratamiento de aguas residuales, ya que Esquivel y col. (2017) [3] reportó una emisión de bioaerosoles compuesta de composición de bacterias y esporas fúngicas de 68 y 32 %, respectivamente. Además, Álvarez-Hornos y col. (2007) [100] trataron AE en un biofiltro y reportaron una composición predominante de bacterias que conformaban la biopelícula en el biofiltro. Dicho análisis fue realizado con los fluorocromos con Syto 9 y yoduro de propidio, que son fluorocromos específicos para teñir bacterias [3], [91]. Sin embargo, es importante resaltar que solo en el sistema ZnO/perlita se registró un 13.97% de esporas fúngicas retenidas

en el soporte lo que sugiere que el biofiltro emitió una mayor cantidad de esporas fúngicas ya que en el sistema ZnO/Poraver se registró un 0.45% de esporas fúngicas retenidas y no corrobora que el ZnO tenga mayor afinidad a la adsorción de esporas fúngicas.

Tabla 13. Cantidad de bacterias, levaduras y esporas fúngicas retenidos en el soporte de los diferentes sistemas después de las 96 h de operación.

Sistema	Bacterias y Levaduras totales retenidas en soporte [células]	Porcentaje retenido de bacterias y levaduras del porcentaje total [%]	EF totales retenidos en soporte	Porcentaje retenido de EF del porcentaje total [%]	Cantidad total de bioaerosoles retenidos en el soporte
ZnO/Perlita	$6.80 \times 10^7 \pm 2.07 \times 10^7$	86.60	$9.11 \times 10^6 \pm 1.21 \times 10^5$	13.97	7.71×10^7
ZnO/Poraver	$2.07 \times 10^9 \pm 4.63 \times 10^7$	99.55	$9.38 \times 10^6 \pm 1.06 \times 10^5$	0.45	2.08×10^9
TiO ₂ /Perlita	$2.82 \times 10^9 \pm 3.17 \times 10^7$	99.74	$7.37 \times 10^6 \pm 3.34 \times 10^5$	0.26	2.83×10^9
TiO ₂ /Poraver	$4.00 \times 10^{10} \pm 3.50 \times 10^8$	99.97	$1.01 \times 10^7 \pm 2.45 \times 10^5$	0.03	4.00×10^{10}

EF = Esporas fúngicas

2.6 Balance de bioaerosoles

Para poder determinar una eficiencia de retención de bioaerosoles a través del tiempo se hizo un balance global evaluado a las 96 horas de los procesos fotocatalíticos, ya que es el tiempo en que se pudo extraer una muestra del soporte para el desprendimiento y posterior análisis celular. El balance global para ambos sistemas se muestra en la Tabla 14.

El balance se desarrolló con las ecuaciones 16, 17 y 18 para homogenizar unidades con respecto a las células acumuladas en el soporte:

$$Bioaerosoles \text{ (células)} = X \frac{cel}{m^3 \text{ aire}} \left(\frac{0.0022 \text{ m}^3}{min} \right) (\text{Tiempo}) \dots \text{Ecuación 16}$$

$$Bioaerosoles_{en \ soporte} \text{ (células)} = X \frac{células_{retenidas}}{g_{soporte} * \mu L} (\text{Volumen muestra}) (Y \ g_{soporte}) \dots \text{Ecuación 17}$$

$$\text{Balance global} = \text{Entrada} - (\sum \text{Salidas} + \text{Acumulación}_{soporte}) \dots \text{Ecuación 18}$$

En la ecuación 16 se puede apreciar que se involucra el flujo del biofiltro que es el mismo que tiene el fotorreactor para poder considerar el tiempo de evaluación y la cantidad de células en las muestras medidas con el citrómetro de flujo. Al final se obtiene el valor numérico de bioaerosoles en unidades de células que se pueden comparar con el número de células retenidas en el soporte (ecuación 17).

El balance global se calculó con el uso de la ecuación 18 donde se involucra la cantidad de células a la entrada durante las 96 horas y la suma de todas las células cuantificadas durante todo el proceso de fotocatalisis, así como la cantidad de

células retenidas en el soporte. Debido a que no se analizaron todas las muestras de la salida de cada sistema para calcular la cantidad de esporas fúngicas (Tabla 14), el balance global no incluye la cantidad de esporas fúngicas.

Los números negativos expresados en la Tabla 14 se deben a que hubo un proceso de desorción de bioaerosoles, en todos los sistemas. Lo anterior se atribuye a que el sistema está compuesto de catalizadores mesoporosos con isoterma tipo IV, lo cual permite procesos de fisisorción no selectivos lo que propicia la desorción de los bioaerosoles retenidos en los soportes.

En la Tabla 14 se puede observar que, para todos los sistemas, excepto para el TiO_2 /Poraver, las células vivas muestreadas a la salida del fotorreactor al final de las 96 horas de operación representaron un mayor porcentaje comparado con el de las células muertas y dañadas debido a la desactivación de los catalizadores que tienen lugar en los sistemas. El sistema TiO_2 /Poraver mantuvo la proporción de células vivas, muertas y dañadas de la entrada demostrando la estabilidad del biofiltro en composición de bioaerosoles, además, se registró la mayor cantidad de bioaerosoles totales a la entrada del fotorreactor de los cuatro sistemas ($4.61 \times 10^9 - T_0$) y a partir de la hora 36 de operación se registró un proceso de desorción. A partir de esta hora la cantidad de bioaerosoles totales en las salidas del fotorreactor se estabilizó con respecto a la cantidad en la entrada haciendo evidente el proceso de desorción y la estabilidad del sistema en términos de fisisorción.

Así, con el balance global de bioaerosoles retenidos en el soporte del fotorreactor, se registró un 50% más de células muertas comparado con el de la entrada debido a la lisis celular sobre el TiO_2 [18] y el porcentaje de células vivas retenidas en los soportes impregnados con TiO_2 es al menos 2.8 veces menor que el porcentaje de células muertas. Lo anterior sugiere que las bacterias y levaduras sorbidas en los sistemas con TiO_2 sufrieron un efecto fotolítico para su inactivación. Lo anterior se debe a que la CRA del ZnO impregnado en perlita y poraver es de 3.47% a 4.44% menor, respectivamente, comparado con la CRA del TiO_2 impregnado en los soportes, además, se ha reportado que el TiO_2 es altamente hidrofílico [17] por lo que estas características afectaron la retención de las bacterias y levaduras en los sistemas con TiO_2 , siendo al menos 1 orden de magnitud mayor la cantidad de bacterias y levaduras retenidos en los sistemas de TiO_2 comparados con los sistemas de ZnO . Lo anterior, aunado a la irradiación UVC constante, en los sistemas fotocatalíticos pudo propiciar la muerte celular de las bacterias y levaduras retenidas en el sistema ya que se ha reportado que con exposiciones a longitudes de onda de 254 nm con un tiempo de contacto mayor a 24 h se logra inactivar hasta el 99% de *E. coli*, *B. subtilis* y *Candida famata*, como lo reportaron Lin y col. (2010) [66].

Lo anterior ha sido reportado por Kujundzic y col. (2007) [67] ya que implementaron la irradiación UVC (254 nm) en un sistema en lote con HVAC para la inactivación fotolítica de *Aspergillus versicolor* y *Mycobacterium parafortuitum*, con un tiempo de

exposición de 14 min y una concentración inicial de 1.4×10^4 UFC/m³, alcanzando una inactivación de 75% y 87%, respectivamente.

En el sistema ZnO/Poraver el mayor porcentaje de células a la salida del fotorreactor (T₀) es de vivas (63.30 %) comparado con el 38.37% de células vivas a la entrada del fotorreactor. Lo anterior se puede atribuir a una acumulación de células en el soporte y la pronta desactivación del ZnO por las reacciones de competencia con CO₂ y a que dicho porcentaje es variable a lo largo de las 96 h de operación del sistema. Durante las últimas 24 h de operación del sistema se registró un promedio de $2.05 \times 10^8 \pm 4.8 \times 10^7$ células, siendo este valor 20.31 veces mayor comparado con el de las primeras 4 h de operación. En este tiempo se logró estabilizar la cantidad de células vivas a la salida del fotorreactor y se registró un promedio de $1.01 \times 10^7 \pm 8.92 \times 10^6$ de células vivas a la salida del fotorreactor. Se puede observar una mayor cantidad de células dañadas retenidas en el soporte con respecto a las células dañadas a la entrada del fotorreactor y a la salida del mismo de 7.7 veces mayor y 3.6 veces mayor, respectivamente. Lo anterior se puede atribuir a la citotoxicidad que pueden provocar las NPs de ZnO [72]. El daño citotóxico causado por las NPs de ZnO ha sido reportado por Li y col. (2012) [70] en un estudio de inactivación de *E. coli* en contacto con las NPs de ZnO suspendidas en un medio acuoso en un sistema en lote. El tiempo de contacto fue de 120 min y causó la inactivación del 10% de las bacterias [70].

Tabla 16. Balance global para los sistemas fotocatalíticos.

Condiciones de muestreo en fotorreactor	Valor (Células _{totales})											
	Poraver						Perlita					
	ZnO			TiO ₂			ZnO			TiO ₂		
Células a la entrada	1.58x10 ⁹			4.61x10 ⁹			5.52x10 ⁸			1.87x10 ⁸		
	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D
	38.37%	59.96%	1.99%	31.94%	65.00%	3.06%	70.90%	24.58%	4.52%	40.48%	55.89%	3.63%
Sumatoria de células en las 18 salidas	1.40x10 ⁹			8.97x10 ⁸			1.45x10 ⁹			2.87x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D
	63.30%	32.15%	4.24%	24.05%	74.09%	1.86%	60.35%	32.65%	7.00%	71.38%	23.59%	5.03%
Células retenidas en soporte (Acumulación _{soporte})	2.07x10 ⁹			4.00x10 ¹⁰			6.80x10 ⁷			2.82x10 ⁹		
	V	M	D	V	M	D	V	M	D	V	M	D
	43.58%	41.16%	15.26%	4.54%	94.95%	0.51%	45.56%	49.11	5.33%	25.14%	69.99%	4.87%
Balance global	-1.8910 ⁹ células			-3.63 ¹⁰ células			-1.57x10 ⁹ células			-5.50x10 ⁹ células		

V= Células vivas; M= Células muertas; D = Células dañadas

Por otro lado, en el sistema ZnO/Perlita el mayor porcentaje de células a la entrada del fotorreactor (T_0) es de vivas (70.90 %) y dicho porcentaje se mantiene después de las 96 h de operación del sistema. Lo anterior se atribuye a la desorción que existió a las 72 h de operación y a la desactivación del catalizador a las 60 h donde se puede notar que a partir de dicho periodo aumenta el porcentaje de células vivas en la composición de las muestras a la salida del fotorreactor. Durante las últimas 24 h de operación del sistema se registró un promedio de $8.62 \times 10^7 \pm 4.00 \times 10^6$ células, siendo este valor 133 veces mayor comparado con el de las primeras 7.5 h de operación, cuando el catalizador tuvo la mayor eficiencia de inactivación de los bioaerosoles, se registró un promedio de $6.46 \times 10^5 \pm 2.33 \times 10^5$ de células a la salida del fotorreactor.

En cambio, en el sistema TiO_2 /Perlita se registró una menor cantidad de bioaerosoles totales a la entrada del fotorreactor ($1.87 \times 10^8 - T_0$) y a partir de la hora 11.5 de operación se registró un proceso de desorción. A partir de esta hora la cantidad de bioaerosoles totales en las salidas del fotorreactor aumento 1 orden de magnitud con respecto a la cantidad en la entrada, demostrando la inestabilidad del sistema en términos de fisisorción y es por esto que se emite una mayor concentración de bioaerosoles totales al final de las 96 h de operación.

Por otro lado, el porcentaje de células dañadas se mantiene constante con un promedio de 5.02 ± 1.03 de células en el sistema ZnO/Perlita y de 4.51 ± 0.62 de células en el sistema TiO_2 /Perlita. En ambos sistemas es al menos 1.38 y 1.17 veces mayor la cantidad de células dañadas a la salida y retenidas en el soporte, respectivamente, con respecto a las de la entrada.

5. CONCLUSIONES

El tipo de soporte seleccionado para el desarrollo de los sistemas fotocatalíticos es vital ya que afecta directamente al rendimiento fotocatalítico de los catalizadores debido al grado de impregnación de los catalizadores sobre el soporte, el área superficial específica y la capacidad de retención de agua haciendo propicio que, cuando el soporte es rugoso y con una constitución de poros homogénea, se retenga mayor cantidad de catalizador, se obtenga una mayor área superficial, así como mayor capacidad de retención de agua, como en el caso de la perlita, lo que implicó la prolongación del tiempo de vida media del ZnO/Perlita y la pronta desactivación del TiO_2 /Perlita debido a la capacidad de retención de agua y al grado de afinidad a las moléculas de agua de cada uno de los catalizadores. En cambio, el poraver propició reacciones de competencia con el CO_2 que redujeron el gas y saturaron a los catalizadores por especies reducidas del CO_2 povocando su envenenamiento y posterior desactivación principalmente del ZnO/Poraver.

El sistema fotocatalítico más eficiente fue el de ZnO/Perlita debido a que puede inactivar hasta un 72 % de bioaerosoles de forma continua y mantener dicho

porcentaje de inactivación durante 7.5 horas. Le sigue el sistema TiO₂/Poraver con un 77% en la hora 2 del proceso de inactivación de bioaerosoles. Sin embargo, dicho porcentaje no fue constante y se detectó la desactivación del catalizador a la hora 4 del proceso. El sistema fotocatalítico TiO₂/Perlita tuvo un porcentaje de inactivación máximo de 40% y el sistema ZnO/Poraver no inactivó a los bioaerosoles.

El tipo de soporte también afecta el tiempo que se requiere para alcanzar el punto de equilibrio debido al área superficial específica y los sitios activos disponibles donde puede ocurrir la adsorción de bioaerosoles. Los cuatro sistemas mantienen fenómenos de fisorción que provocaron la desorción de los bioaerosoles.

6. REFERENCIAS

- [3] S. Esquivel-Gonzalez, A. Aizpuru, A. Patrón-Soberano, and S. Arriaga, "Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, vol. 123, pp. 78–86, 2017.
- [4] F. Chen, X. Yang, H. K. C. Mak, and D. W. T. Chan, "Photocatalytic oxidation for antimicrobial control in built environment: A brief literature overview," *Build. Environ.*, vol. 45, no. 8, pp. 1747–1754, 2010.
- [5] A. Pal, X. Min, L. E. Yu, S. O. Pehkonen, and M. B. Ray, "Photocatalytic Inactivation of Bioaerosols by TiO₂ Coated Membrane," *Int. J. Chem. React. Eng.*, vol. 3, pp. 1–12, 2005.
- [6] J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, and D. Heederik, "Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects," *Ann. Occup. Hyg.*, vol. 47, no. 3, pp. 187–200, 2003.
- [7] B. Ghosh, H. Lal, and A. Srivastava, "Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms," *Environ. Int.*, vol. 85, pp. 254–272, 2015.
- [12] C. Chang, S. LI, C. Huang, Y. Chen, and C. Chen, "Effects of ultraviolet germicidal irradiation and swirling motion on airborne *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Legionella pneumophila* under various relative humidities," *Indoor Air*, vol. 23, no. Ultraviolet germicidal irradiation on pathogenic bioaerosols, pp. 74–84, 2012.
- [17] L. Zhong and F. Haghghat, "Photocatalytic air cleaners and materials technologies - Abilities and limitations," *Build. Environ.*, vol. 91, pp. 191–203, 2015.
- [18] W. A. Jacoby, P. C. Maness, E. J. Wolfrum, D. M. Blake, and J. A. Fennell, "Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 17, pp. 2650–2653, 1998.
- [19] P. Chuaybamroong, R. Chotigawin, S. Supothina, P. Sribenjalux, S. Larпкиattaworn, and C. Y. Wu, "Efficacy of photocatalytic HEPA filter on microorganism removal,"

Indoor Air, vol. 20, no. 3, pp. 246–254, 2010.

- [20] C. Rodrigues-Silva *et al.*, “Bacteria and fungi inactivation by photocatalysis under UVA irradiation: liquid and gas phase,” *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, no. 7, pp. 6372–6381, 2017.
- [21] S. Pigeot-Remy *et al.*, “Inactivation of *Aspergillus niger* spores from indoor air by photocatalytic filters,” *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 134–135, pp. 167–173, 2013.
- [31] J. O. Saucedo and S. Arriaga, “Estudio de la degradación de vapores de n-Hexeno mediante el acoplamiento de fotólisis y fotocátalisis como sistemas de pre y post tratamiento a un biofiltro,” Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., 2015.
- [32] N. Goyer, J. Lavoie, L. Lazure, and G. Marchand, *Bioaerosols in the workplace: Evaluations, Control and Prevention Guide*. Montréal (Québec): IRSST - Direction des communications, 2001.
- [33] J. Mandal and H. Brandl, “Bioaerosols in Indoor Environment - A Review with Special Reference to Residential and Occupational Locations,” *Open Environ. Biol. Monit. J.*, vol. 41, no. 1, pp. 83–96, 2011.
- [35] U. Pöschl, “Atmospheric aerosols: Composition, transformation, climate and health effects,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 44, no. 46, pp. 7520–7540, 2005.
- [37] A. D. Estillore *et al.*, “Atmospheric chemistry of bioaerosols: heterogeneous and multiphase reactions with atmospheric oxidants and other trace gases,” *Chem. Sci.*, vol. 7, no. 11, pp. 6604–6616, 2016.
- [38] P. Blais-Lecours, P. Perrott, and C. Duchaine, “Non-culturable bioaerosols in indoor settings: Impact on health and molecular approaches for detection,” *Atmos. Environ.*, vol. 110, pp. 45–53, 2015.
- [50] Y. Boyjoo, H. Sun, J. Liu, V. K. Pareek, and S. Wang, “A review on photocatalysis for air treatment : From catalyst development to reactor design,” *Chem. Eng. J.*, vol. 310, pp. 537–559, 2017.
- [56] A. Hernández, “NTP 313: Calidad del aire interior: riesgos microbiológicos en los sistemas de ventilación/climatización.” [Online]. Available: http://www.jmcpri.net/NTPs/@Datos/ntp_313.htm. [Accessed: 11-Jan-2017].
- [61] B. Sánchez *et al.*, “Photocatalytic elimination of indoor air biological and chemical pollution in realistic conditions,” *Chemosphere*, vol. 87, no. 6, pp. 625–630, 2012.
- [66] C. Lin, C. Li, C. Lin, and C. Li, “Control Effectiveness of Ultraviolet Germicidal Irradiation on Bioaerosols,” *Aerosol Sci. Technol.*, vol. 6826, no. July, pp. 474–478, 2010.
- [67] E. Kujundzic, M. Hernandez, and S. L. Miller, “Ultraviolet germicidal irradiation inactivation of airborne fungal spores and bacteria in upper-room air and HVAC in-duct configurations,” vol. 9, no. May, pp. 1–9, 2007.
- [70] Y. Li, W. Zhang, J. Niu, and Y. Chen, “Mechanism of Photogenerated Reactive Oxygen Species and Correlation with the Antibacterial Properties of Engineered,” no. 6, pp. 5164–5173, 2012.

- [72] B. Wu *et al.*, "Comparative eco-toxicities of nano-ZnO particles under aquatic and aerosol exposure modes," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 4, pp. 1484–1489, 2010.
- [73] Y. Xie, Y. He, P. L. Irwin, T. Jin, and X. Shi, "Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 77, no. 7, pp. 2325–2331, 2011.
- [75] V. K. Yemmireddy and Y.-C. Hung, "Using Photocatalyst Metal Oxides as Antimicrobial Surface Coatings to Ensure Food Safety-Opportunities and Challenges," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 16, pp. 617–631, 2017.
- [78] K. Mageshwari and R. Sathyamoorthy, "Physical properties of nanocrystalline CuO thin films prepared by the SILAR method," *Mater. Sci. Semicond. Process.*, vol. 16, no. 2, pp. 337–343, 2013.
- [81] J. Podporska-Carroll *et al.*, "Antibacterial properties of F-doped ZnO visible light photocatalyst," *J. Hazard. Mater.*, vol. 324, pp. 39–47, 2017.
- [85] M. Y. Menetrez, K. K. Foarde, T. R. Dean, and D. A. Betancourt, "The effectiveness of UV irradiation on vegetative bacteria and fungi surface contamination," *Chem. Eng. J.*, vol. 157, pp. 443–450, 2010.
- [87] J. O. Saucedo-Lucero and S. Arriaga, "Photocatalytic oxidation process used as a pretreatment to improve hexane vapors biofiltration," *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, vol. 90, no. 5, pp. 907–914, 2015.
- [89] K. S. W. Sing *et al.*, "International Union of Pure and Applied Chemistry, Including Catalysis-Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity," *Pure Appl. Chem.*, vol. 57, no. 4, pp. 603–619, 1985.
- [91] BD Biosciences, "BD FACSCalibur Flow Cytometry System Fluidics: Technical Specifications," 2010.
- [92] L. M. Vanhee, H. J. Nelis, and T. Coenye, "Rapid detection and quantification of *Aspergillus fumigatus* in environmental air samples using solid-phase cytometry," *Env. Sci Technol*, vol. 43, no. 9, pp. 3233–3239, 2009.
- [93] T. García, S. Arriaga, F. Alatríste, and A. Aizpuro, "Efecto de la Adición de Pulsos de Ozono Sobre la Composición de la Biopelícula Durante la Biofiltración de Formaldehído," 2012.
- [100] F. J. Álvarez-Hornos, C. Gabaldón, V. Martínez-Soria, P. Marzal, J. M. Peña-Roja, and F. Sempere, "Biofiltration of ethyl acetate under continuous and intermittent loading," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 26, no. 4, pp. 327–337, 2007.
- [101] J. Saucedo, G. Quijano, and S. Arriaga, "Hexane abatement and spore emission control in a fungal biofilter-photoreactor hybrid unit," vol. 276, pp. 287–294, 2014.
- [111] R. Sathyamoorthy and K. Mageshwari, "Synthesis of hierarchical CuO microspheres: Photocatalytic and antibacterial activities," *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures*, vol. 47, pp. 157–161, 2013.
- [112] K. Mageshwari and R. Sathyamoorthy, "Flower-shaped CuO Nanostructures: Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity," *J. Mater. Sci. Technol.*, vol.

29, no. 10, pp. 909–914, 2013.

- [114] G. Madhumitha, G. Elango, and S. M. Roopan, “Biotechnological aspects of ZnO nanoparticles: overview on synthesis and its applications,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 100, no. 2, pp. 571–581, 2016.
- [116] S. R. Lingampalli, M. M. Ayyub, and C. N. R. Rao, “Recent Progress in the Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide,” *ACS Omega*, vol. 2, no. 6, pp. 2740–2748, 2017.
- [117] Y. Xia, J. Wang, R. Chen, D. Zhou, and L. Xiang, “A Review on the Fabrication of Hierarchical ZnO Nanostructures for Photocatalysis Application,” *Crystals*, vol. 6, no. 11, p. 148, 2016.
- [118] V. Prigione, G. Lingua, and V. F. Marchisio, “Development and Use of Flow Cytometry for Detection of Airborne Fungi,” *Society*, vol. 70, no. 3, pp. 1360–1365, 2004.
- [119] BD Biosciences, “Live and Dead Cell Discrimination BD™ Cell Viability Kit,” 2015.
- [121] BD Biosciences, “BBL™ Calcofluor White Reagent Droppers,” 2016.
- [126] J. M. Meichtry *et al.*, “Low-Cost TiO₂ Photocatalytic Technology for Water Potabilization in Plastic Bottles For Isolated Regions. Photocatalyst Fixation,” *J. Sol. Energy Eng.*, vol. 129, no. 1, p. 119, 2007.
- [127] C. B. Ong, L. Y. Ng, and A. W. Mohammad, “A review of ZnO nanoparticles as solar photocatalysts: Synthesis, mechanisms and applications,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 81, no. March 2017, pp. 536–551, 2018.
- [128] K. M. Lee, C. W. Lai, K. S. Ngai, and J. C. Juan, *Recent developments of zinc oxide based photocatalyst in water treatment technology: A review*, vol. 88. Elsevier Ltd, 2016.
- [129] J. Li, X. Wu, and X. Xu, “Preparation and characterisation of ZnO nanorod array-coated hollow glass microsphere composites,” *Micro Nano Lett.*, vol. 7, no. 4, pp. 363–365, 2012.
- [130] W. Lu, S. Gao, and J. Wang, “One-Pot Synthesis of Ag / ZnO Self-Assembled 3D Hollow Microspheres with Enhanced Photocatalytic Performance,” *Society*, pp. 16792–16800, 2008.
- [131] K. M. Sim, K. H. Kim, G. B. Hwang, S. Seo, G. N. Bae, and J. H. Jung, “Development and evaluation of antimicrobial activated carbon fiber filters using *Sophora flavescens* nanoparticles,” *Sci. Total Environ.*, vol. 493, pp. 291–297, 2014.
- [132] J. O. Saucedo-Lucero and S. Arriaga, “Photocatalytic degradation of hexane vapors in batch and continuous systems using impregnated ZnO nanoparticles,” *Chem. Eng. J.*, vol. 218, no. June, pp. 358–367, 2013.
- [133] M. Smits *et al.*, “Photocatalytic degradation of soot deposition: Self-cleaning effect on titanium dioxide coated cementitious materials,” *Chem. Eng. J.*, vol. 222, pp. 411–418, 2013.
- [134] D. M. Tobaldi, A. Tucci, G. Camera-Roda, G. Baldi, and L. Esposito, “Photocatalytic activity for exposed building materials,” *J. Eur. Ceram. Soc.*, vol. 28, no. 14, pp. 2645–2652, 2008.

- [135] M. Zlámal, J. Krýsa, and J. Jirkovský, "Photocatalytic degradation of acid orange 7 on TiO₂ films prepared from various powder catalysts," *Catal. Letters*, vol. 133, no. 1–2, pp. 160–166, 2009.
- [136] L. Pinho and M. J. Mosquera, "Photocatalytic activity of TiO₂-SiO₂nanocomposites applied to buildings: Influence of particle size and loading," *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 134–135, pp. 205–221, 2013.
- [137] C. Cárdenas, J. I. Tobón, C. García, and J. Vila, "Functionalized building materials: Photocatalytic abatement of NO_x by cement pastes blended with TiO₂ nanoparticles," *Constr. Build. Mater.*, vol. 36, no. x, pp. 820–825, 2012.
- [138] R. Anicua and G. M. de. Carmen, "Particule size and micromorphological relation on physical properties of perlite and zeolite," *Agric. Técnica en México*, vol. 35, pp. 147–156, 2009.

CONCLUSIONES GENERALES

Durante este estudio se llevó a cabo la inactivación de bioaerosoles reales emitidos por un biofiltro que trató vapores de acetato de etilo, los sistemas fotocatalíticos ZnO/Perlita, ZnO/Poraves, TiO₂/Perlita y TiO₂/Poraver fueron utilizados. El sistema fotocatalítico más eficiente consistió en ZnO/Perlita debido a que alcanzó una eficiencia de inactivación de bioaerosoles máxima de 72% a las 2.5 h del proceso. El porcentaje de inactivación mantuvo un promedio de 70% ± 1 durante 7.5 h del proceso continuo y se detectó la inactivación del catalizador hasta las 60 h. El segundo sistema más eficiente en la inactivación de bioaerosoles fue el TiO₂/Poraver con un 77% en la hora 2 del proceso de inactivación de bioaerosoles. Sin embargo, dicho porcentaje no fue constante y se detectó la desactivación del catalizador a la hora 4 del proceso. Así, el sistema TiO₂/Perlita fue el tercer sistema más eficiente con un porcentaje de inactivación de 40% de bioaerosoles durante la primera hora del proceso y en este periodo también se detectó su desactivación debido a su afinidad a las moléculas del agua y el envenenamiento del catalizador por las especies reducidas de CO₂ y las sustancias de lisis celular provenientes de los bioaerosoles inactivados. El sistema ZnO/Poraver no funcionó correctamente y no contribuyó en la inactivación de bioaerosoles, lo anterior debido a la falta de moléculas de H₂O como precursores de las reacciones fotocatalíticas con el ZnO y a la desactivación del catalizador por la deposición de las células de bioaerosoles y los compuestos reducidos del CO₂ emitidos por el biofiltro.

De esta manera se concluye que la primera hipótesis planteada en el presente proyecto se cumple para los sistemas ZnO/Perlita, TiO₂/Poraver y TiO₂/Perlita donde se logró identificar y cuantificar la inactivación de bioaerosoles por la fotoexcitación de los catalizadores (ZnO y TiO₂) a una longitud de onda de 254 nm. Se descartó un efecto fotolítico en la inactivación de bioaerosoles debido a que las pruebas estadísticas demostraron que la propia irradiación a 254 nm no produce en cambio significativo en la cantidad de células vivas a la salida de los sistemas. Además, se comprobó que el contacto físico entre los cristales de ZnO y TiO₂, sin irradiación, tampoco provoca un cambio significativo en la cantidad de células vivas a la salida del fotorreactor. Sin embargo, se detectó que el contacto físico entre los cristales del ZnO y los bioaerosoles produce un daño físico externo en la membrana de los mismos después de las 96 horas de los procesos fotocatalíticos.

La segunda hipótesis se comprobó con el sistema TiO₂/Poraver, donde se detectó la prolongación del tiempo de vida media del catalizador 4 veces mayor comparado al tiempo de vida media en el sistema TiO₂/Perlita. Sin embargo, para el sistema ZnO/Poraver resulta una hipótesis nula debido al envenenamiento por las especies reducidas del CO₂ y bioaerosoles.

Los mecanismos de inactivación de los bioaerosoles observado en las micrográficas obtenidas a través de microscopia electrónica de barrido fue por daño en la

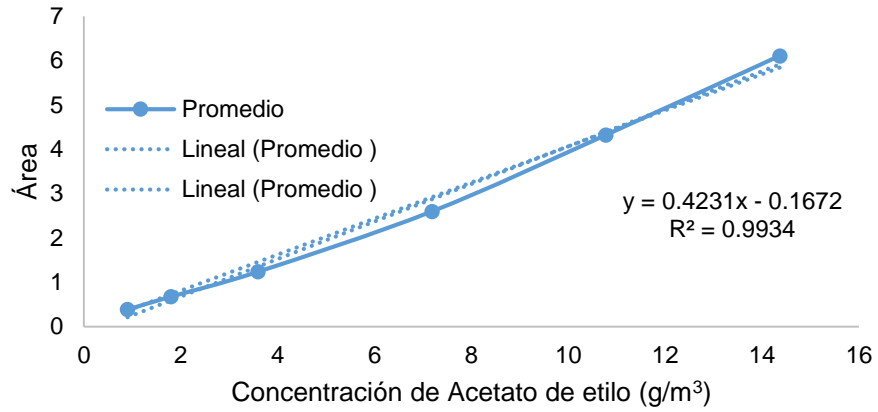
membrana de los bioaerosoles, lisis celular, así como la modificación morfológica de las células.

PERSPECTIVAS GENERALES

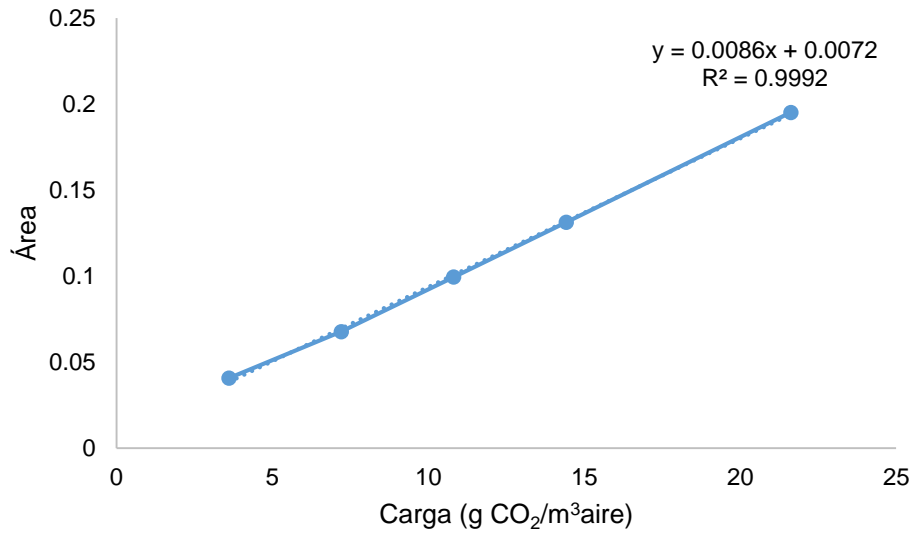
- Proponer soportes que propicien una mayor área superficial específica para el desarrollo de los sistemas fotocatalíticos y estudiar el efecto que tienen en la eficiencia de inactivación de bioaerosoles.
- Realizar estudios de la reducción de CO₂ por los procesos fotocatalíticos para caracterizar y cuantificar las especies reducidas del gas.
- Estudiar la reactivación de los catalizadores, así como evaluar los ciclos de fotocatalisis en función del tiempo de vida media del catalizador reactivado y su eficiencia en la inactivación de los bioaerosoles.
- Es importante cuantificar la cantidad de esporas fúngicas emitidos por el biofiltro, además del muestreo de bioaerosoles que ingresan al sistema para determinar si el biofiltro funge como fuente o medio de retención de bioaerosoles.
- Determinar la concentración total de esporas fúngicas con Calcofluor-White, así como su viabilidad con yoduro de propidio y daño de la pared celular de los mismos por ondas de microondas en las 18 muestras colectadas a la salida del fotorreactor.
- Se requiere desarrollar más estudios enfocados al control de la acumulación de biomasa en el biofiltro por métodos naturales o biológicos por ejemplo con ácaros, para determinar las ventajas y desventajas de los mismos en la disminución del taponamiento, desempeño de biofiltros y emisión de bioaerosoles.
- Comprobar la fase cristalina y composición de los cristales modificados observados en SEM después de la evaluación de 96 horas en el sistema ZnO/Perlita.
- Comprobar que en las muestras líquidas colectadas mediante impactación líquida no existen nanopartículas desprendidas del soporte y si es el caso medir el grado de desprendimiento.

ANEXOS

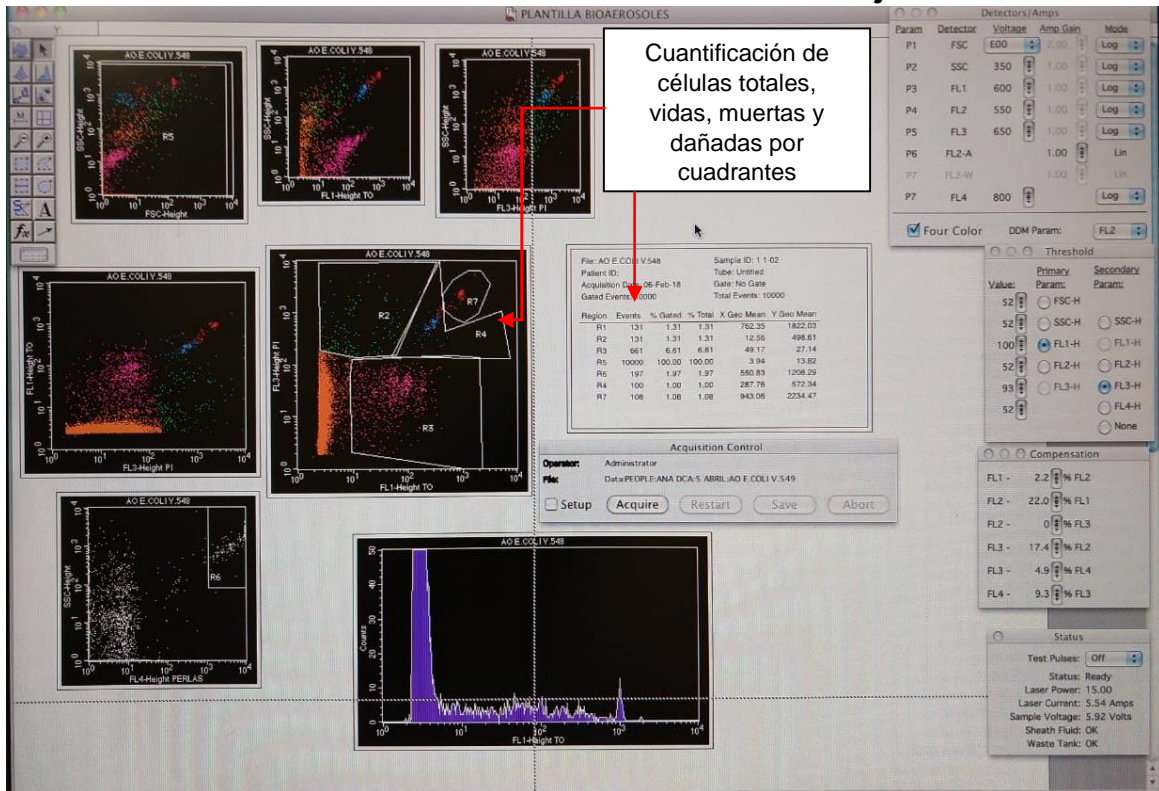
1. Curva de calibración de Acetato de Etilo



2. Curva de calibración de CO₂

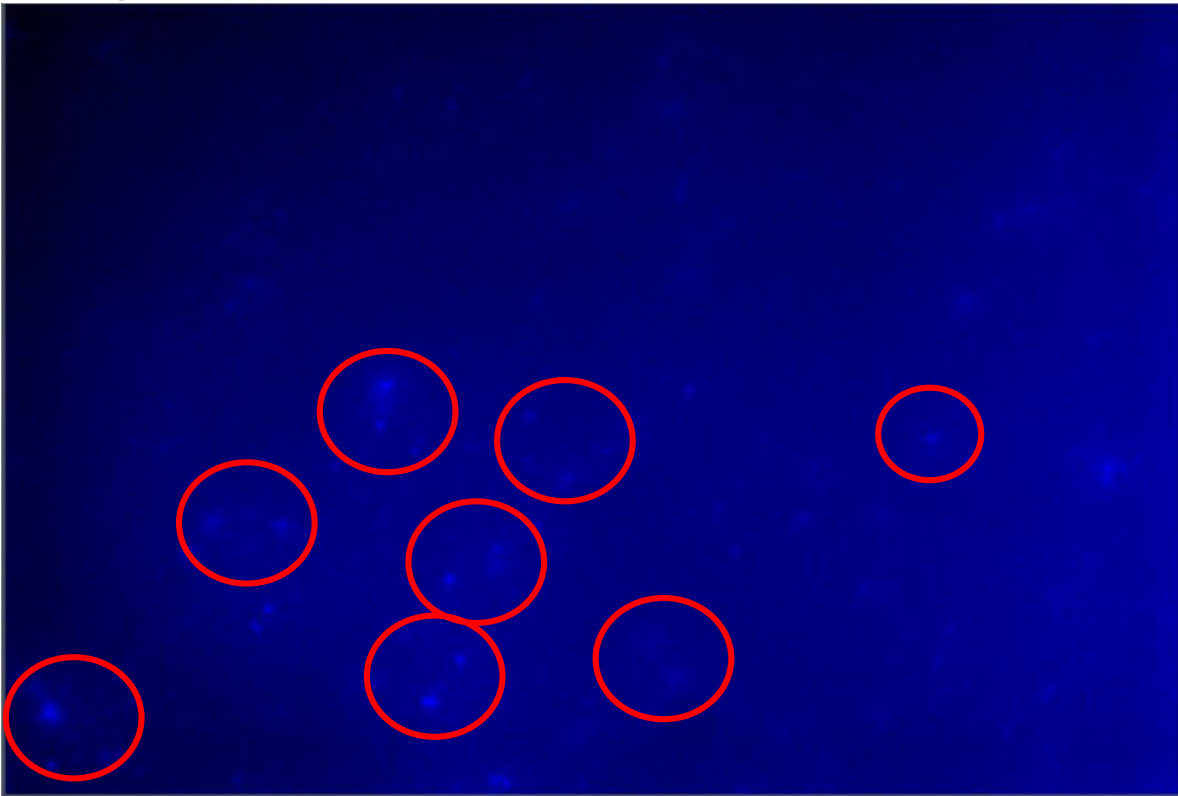


3. Medición de bioaerosoles en el citómetro de flujo



Cuantificación automática de células vivas, muertas, dañadas y totales (suma de las últimas tres) en el citómetro de flujo mediante la tinción de muestras de bioaerosoles con los fluorocromos naranja de tiazol y yoduro de propidio. En la parte superior derecha se pueden observar los parámetros operacionales descritos en el capítulo de metodología.

4. Medición de esporas fúngicas por medio de microscopía de epifluorescencia



Cuantificación visual y manual de las esporas fúngicas provenientes de las muestras de bioaerosoles teñidos con Calcofluor-White. En un círculo rojo están marcadas algunos las esporas fúngicas.